



Universidad Autónoma de Sinaloa
Facultad de Ciencias Químico-Biológicas
Programa de Posgrado Integral en Biotecnología
Maestría en Ciencias con Orientación en Biotecnología

“Tortillas funcionales a base de harina de maíz azul extrudido fortificadas con harina de vainas de mezquite fermentadas-extrudidas y harina de cálices de jamaica. Optimización y estudio preliminar *in vivo* de prevención del daño intestinal ocasionado por infección de *H. pylori*”.

TESIS

Que presenta

L.B.G. Marco Cesar Villanazul Verdugo

Como requisito para obtener el grado de
Maestro en Ciencias con Orientación en Biotecnología
Agroalimentaria

Directores

Dr. Roberto Gutiérrez Dorado
Dr. Carlos Alberto Gómez Aldapa

Culiacán, Sinaloa, México.

Agosto de 2024



Dirección General de Bibliotecas
Ciudad Universitaria
Av. de las Américas y Blvd. Universitarios
C. P. 80010 Culiacán, Sinaloa, México.
Tel. (667) 713 78 32 y 712 50 57
dgbuas@uas.edu.mx

UAS-Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional Buelna

Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial
Compartir Igual, 4.0 Internacional



PRESENTACIÓN

La presente investigación, titulada “Tortillas funcionales a base de harina de maíz azul extrudido fortificadas con harina de vainas de mezquite fermentadas-extrudidas y harina de cálices de jamaica. Optimización y estudio preliminar *in vivo* de prevención del daño intestinal ocasionado por infección de *H. pylori*”, se llevó a cabo en el Laboratorio de Bioprocesos y Alimentos Funcionales del Programa de Posgrado Integral en Biotecnología, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, con sede en la ciudad de Culiacán, Sinaloa, el laboratorio de Fisicoquímica de Alimentos I del Área Académica de Química, Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería y el Bioterio de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, ubicados en Mineral de la Reforma y San Agustín Tlaxiaca, respectivamente, ambos en el estado de Hidalgo. Se contó con el apoyo de los doctores Roberto Gutiérrez Dorado y Carlos Alberto Gómez Aldapa, fungiendo ambos como directores de tesis. Además, se contó con la asesoría académica de la Dra. Janitzio Xiomara Korina Perales Sánchez y los doctores Cuauhtémoc Reyes Moreno y Héctor Hernández Domínguez. El Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCyT) apoyó al LBG Marco Cesar Villanazul Verdugo, a través de Beca Tesis para Estudios de Maestría 2021-2023.

*A mis sobrinos, Niza, Derek y Decker,
para que le crean algo a su tío Marco.*

AGRADECIMIENTOS

A mi madre, Rossy Verdugo, que siempre pone lo extra en lo ordinario, que siempre ha estado presente para apoyarme, regañarme y aconsejarme cuando es necesario. Por hacerme reír con todas sus ocurrencias y por la paciencia que ha tenido en todo esto tiempo.

A mi hermano, Dr. Jaime Villanazul, por apoyarme en todas mis decisiones, por salvarme la vida, por ser mi ejemplo a seguir y claro por los sobrinos tan hermosos que me regalaste.

A mis directores de tesis, Dr. Roberto Gutiérrez Dorado y Dr. Carlos Alberto Gómez Aldapa, por estar siempre presentes, resolviendo mis dudas, corrigiéndome de la mejor manera y nunca darse por vencidos conmigo.

A mis asesores, Dres. Xiomara K. Perales Sánchez, Cuauhtémoc Reyes Moreno, por brindarme el tiempo necesario para poder comprender todo lo necesario, por la calidad de tiempo brindada y por estar presentes cuando más los necesitaba.

A estos profesores que me han ayudado desde mi formación académica de licenciatura y aun los sigo molestando, Dra Karen y Dr Julio, porque nunca me han negado un consejo o dudado en brindarme su ayuda.

Al Dr. Héctor Hernandez y al M.C Jesus Vega, por transmitirme su conocimiento, de verdad que mi estadía en el bioterio de la UAEH, fue muy amena y satisfactoria gracias a ustedes.

Al Dr. Juan Ocampo y a las técnicas de laboratorio Celeste Ricardo y Samary Gomez por abrirme las puertas del Laboratorio de Histología e Hispatología, del instituto de Ciencias Agropecuarias de la UAEH.

A mis compañeros y amigos de laboratorio, Grisel, Fernanda, Jacqueline, Dulce, Zaida, Evelin, Esthefania, Carlos, Yadrissia y Ana Luisa, porque sin su apoyo, su sabiduría, su

experiencia, sus ocurrencias y todo lo que me compartieron cada uno de usted, créanme que esto no hubiera sido posible.

A mis amigos, Luis, Sarah, Guillermo, Jorge, Lizbeth, Roberto, Armando, Rodrigo y Kevin, por hacerme ver que puedo con más de lo que creo y siempre estar presentes para reírnos. Particularmente, quisiera agradecer a dos personas, Karime y Cristo, que nos hemos venido soportando y ayudando ya desde hace catorce años, créanme que, si no los veo en mi futuro, me regreso por ustedes.

A los amigos que me dejó la maestría, Dariel, Samantha, Maria, Cristhian, Michel, Samantha, que hicieron que mi estancia fuera mucho más amena, que nunca dudaron en abrirme las puertas de su hogar y que nunca me hicieron sentir excluido.

A CONAHCyT por la beca brindada durante mis estudios.

A la Universidad Autónoma de Sinaloa que, a través de unidades académicas como la Facultad de Ciencias Químico Biológicas y el programa de Posgrado Integral en Biotecnología, me ha permitido seguir creciendo académicamente

INDICE GENERAL

| | |
|--|----|
| INDICE DE FIGURAS | iv |
| INDICE DE CUADROS | v |
| I. RESUMEN | 1 |
| ABSTRACT | 3 |
| II. INTRODUCCIÓN | 5 |
| III. REVISIÓN LITERARIA | 10 |
| A. ENFERMEDADES CRÓNICO-DEGENERATIVAS..... | 10 |
| 1. Enfermedades crónico-degenerativas en México. | 10 |
| 2. Cáncer | 12 |
| B. MALNUTRICIÓN..... | 19 |
| 1. Alimentos ultraprocesados. | 20 |
| C. ALIMENTOS FUNCIONALES..... | 21 |
| D. MAÍZ AZUL (<i>Zea Mays L.</i>)..... | 22 |
| 1. Generalidades..... | 22 |
| 2. Estructura del grano..... | 22 |
| 3. Composición proximal del maíz azul..... | 22 |
| 4. Compuestos bioactivos del maíz azul. | 23 |
| E. MEZQUITE (<i>Prosopis laevigata</i>)..... | 25 |
| 1. Generalidades..... | 25 |
| 2. Composición química del mezquite..... | 25 |
| 3. Fermentación de la vaina de mezquite..... | 25 |
| F. JAMAICA (<i>Hibiscus sabdariffa</i>)..... | 27 |
| 1. Generalidades..... | 27 |
| 2. Composición química del fruto..... | 27 |
| G. EXTRUSIÓN..... | 29 |
| 1. Generalidades..... | 29 |
| 2. Componentes del extrusor..... | 30 |
| 3. Proceso de extrusión..... | 30 |
| 4. Efectos de la extrusión sobre las propiedades fisicoquímicas de las harinas. | 32 |
| 5. Efectos de la extrusión sobre las propiedades tecno-funcionales de las harinas..... | 33 |
| IV. JUSTIFICACIÓN | 34 |
| V. HIPOTESIS | 36 |
| VI. OBJETIVOS | 37 |
| A. OBJETIVO GENERAL..... | 37 |
| B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 37 |
| VII. MATERIALES Y MÉTODOS | 38 |

| | |
|--|-----|
| A. MATERIALES..... | 38 |
| B. MÉTODOS..... | 38 |
| 1. Diseño de experimentos..... | 38 |
| 2. Obtención de las harinas de maíz azul extrudido, vaina de mezquite fermentado extrudido y cálices de jamaica..... | 39 |
| 3. Obtención de las tortillas con las mezclas compuestas de harinas..... | 42 |
| 4. Evaluación de las variables de respuesta..... | 43 |
| 5. Análisis de regresión y varianza..... | 50 |
| 6. Optimización..... | 52 |
| 7. Validación de condiciones óptimas..... | 55 |
| 8. Efecto preventivo del daño intestinal ocasionado por infección de <i>H. pylori</i> de tortillas funcionales (estudio preliminar <i>in vivo</i>)..... | 55 |
| 9. Estudios histopatológicos..... | 57 |
| VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 60 |
| A. OBTENCIÓN DE LA MEZCLA COMPUESTA OPTIMIZADA A BASE DE HMAE, HVMFE Y HCJ ADECUADA PARA PREPARAR TORTILLAS FUNCIONALES SENSORIALMENTE ACEPTABLES CON VALORES ALTOS DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS, FLAVONOIDEOS Y ANTOCIANINAS TOTALES..... | 60 |
| 1. Modelos de predicción..... | 60 |
| 2. Optimización de las variables de proceso..... | 73 |
| B. VALIDACIÓN DE LAS CONDICIONES ÓPTIMAS..... | 77 |
| C. RESULTADOS DEL ESTUDIO PRELIMINAR <i>IN VIVO</i> : EFECTO PREVENTIVO DEL CONSUMO DE TORTILLAS FUNCIONALES ELABORADAS A PARTIR DE LA MEZCLA COMPUESTA OPTIMIZADA SOBRE EL DAÑO INTESTINAL OCASIONADO POR INFECCIÓN DE <i>H. pylori</i> EN RATONES HEMBRA BALB/c..... | 80 |
| 1. Intestino delgado y grueso..... | 83 |
| 2. Esófago..... | 83 |
| 3. Estómago..... | 83 |
| 4. Hígado..... | 83 |
| IX. CONCLUSIONES..... | 87 |
| X. BIBLIOGRAFÍA..... | 89 |
| ABREVIATURAS..... | 100 |
| ANEXOS..... | 102 |

INDICE DE FIGURAS

| Figura | Descripción | Pág. |
|---------------|---|-------------|
| 1 | Estadísticas de cáncer. Mapa global de las tasas de incidencia estandarizadas por edad (mundial), de todos los cánceres en hombres en el año 2018. Estados Unidos, Canadá y Australia son algunos de los países que presentan una mayor incidencia de cáncer en la población masculina. | 14 |
| 2 | Componentes del extrusor. Sección transversal de un extrusor de alimentos de tornillo simple: 1) motor; 2) alimentador; 3) sistema de enfriamiento; 4) termopar; 5) tornillo; 6) barril; 7) sistema de calentamiento; 8) cabeza; 9) matrices; 10) cortador; I) sección de transporte, II) sección de compresión; III) sección de fundición y plastificación. | 31 |
| 3 | Representación gráfica de los modelos de regresión de segundo orden para mezclas compuestas. | 51 |
| 4 | Ecuación de transformación utilizada para calcular los valores de deseabilidad individual para cada respuesta. | 53 |
| 5 | Gráfica triangular de contornos mostrando los valores de predicción de la variable de respuesta actividad antioxidante (AAox) en función de las proporciones de los componentes (X1, X2, X3) de la mezcla compuesta. X1 (A)= harina de maíz azul extrudido, X2 (B)= harina de vainas de mezquite fermentado-extrudido y X3 (C)= harina de cálices de jamaica. | 64 |
| 6 | Gráfica triangular de contornos mostrando los valores de predicción de la variable de respuesta compuestos fenólicos totales (CFT) en función de las proporciones de los componentes (X1, X2, X3) de la mezcla compuesta. X1 (A)= harina de maíz azul extrudido, X2 (B)= harina de vainas de mezquite fermentado-extrudido y X3 (C)= harina de cálices de jamaica. | 67 |
| 7 | Gráfica triangular de contornos mostrando los valores de predicción de la variable de respuesta flavonoides totales (FT) en función de las proporciones de los componentes (X1, X2, X3) de la mezcla compuesta. X1 (A)= harina de maíz azul extrudido, X2 (B)= harina de vainas de mezquite fermentado-extrudido y X3 (C)= harina de cálices de jamaica. | 69 |
| 8 | Gráfica triangular de contornos mostrando los valores de predicción de la variable de respuesta antocianinas totales (AT) en función de las proporciones de los componentes (X1, X2, X3) de la mezcla compuesta. X1 (A)= harina de maíz azul extrudido, X2 (B)= harina de vainas de mezquite fermentado-extrudido y X3 (C)= harina de cálices de jamaica. | 72 |
| 9 | Gráfica triangular de contornos mostrando los valores de predicción de la variable de respuesta aceptabilidad global de la tortilla (AGT) en función de las proporciones de los componentes (X1, X2, X3) de la mezcla compuesta. X1 (A)= harina de maíz azul extrudido, X2 (B)= harina de vainas de mezquite fermentado-extrudido y X3 (C)= harina de cálices de jamaica. | 74 |

| Figura | Descripción | Pág. |
|---------------|---|-------------|
| 10 | Gráfica triangular de contornos mostrando los valores de predicción de la deseabilidad global (D) en función de las proporciones de los componentes (X1, X2, X3) de de la mezcla compuesta. X1 (A)= harina de maíz azul extrudido, X2 (B)= harina de vainas de mezquite fermentado-extrudido y X3 (C)= harina de cálices de jamaica. | 76 |
| 11 | Gráfica de deseabilidades individuales para las variables de respuesta y deseabilidad global de la mezcla compuesta optimizada. | 78 |
| 12 | Imágenes histopatológicas obtenidas del estómago. Grupos experimentales: A) Ratones inoculados con <i>H. pylori</i> y alimentados con HMAE, B) Ratones inoculados con <i>H. pylori</i> y alimentados con HMAE + HVMFE, C) Ratones inoculados con <i>H. pylori</i> y alimentados con HMAE + HVMFE + HCJ (óptima), D) Ratones inoculados con <i>H. pylori</i> y alimentados con Caseína y E) Ratones no-inoculados con <i>H. pylori</i> y alimentados con Caseína. HMAE = harina de maíz azul extruido, HVMFE = harina de vainas de mezquite fermentadas-extruidas, HCJ = harina de cálices de jamaica. | 84 |
| 13 | Imágenes histopatológicas obtenidas del hígado. Grupos experimentales: A) Ratones inoculados con <i>H. pylori</i> y alimentados con HMAE, B) Ratones inoculados con <i>H. pylori</i> y alimentados con HMAE + HVMFE, C) Ratones inoculados con <i>H. pylori</i> y alimentados con HMAE + HVMFE + HCJ (óptima), D) Ratones inoculados con <i>H. pylori</i> y alimentados con Caseína y E) Ratones no-inoculados con <i>H. pylori</i> y alimentados con Caseína. HMAE = harina de maíz azul extruido, HVMFE = harina de vainas de mezquite fermentadas-extruidas, HCJ = harina de cálices de jamaica. | 86 |

INDICE DE CUADROS

| Cuadro | Descripción | Pág. |
|---------------|---|-------------|
| 1 | Categorías del cáncer. | 15 |
| 2 | Composición química del maíz azul. | 24 |
| 3 | Composición química (g/100g) de la vaina de mezquite. | 26 |
| 4 | Composición química (g/100g) del cáliz de jamaica. | 28 |
| 5 | Diseño de experimentos L-Optimal de la metodología de superficie de respuesta para obtener diferentes mezclas compuestas a base de harina de maíz azul extrudido (HMAE), harina de vaina de mezquite fermentado extrudido (HVMFE) y harina de cálices de jamaica (HCJ). También, se muestran las variables de respuesta a estudiar para obtener la mezcla compuesta optimizada. | 40 |
| 6 | Formulación de las dietas empleadas para alimentar ratones en fase de crecimiento. | 56 |
| 7 | Procesamiento automatizado de muestras histológicas. | 58 |
| 8 | Tinción hematoxilina y Eosina. | 59 |
| 9 | Resultados experimentales de las variables de respuesta evaluadas a tortillas funcionales preparadas con diferentes niveles de inclusión de HMAE, HVMFE y HCJ. | 61 |
| 10 | Coefficientes de regresión y análisis de varianza para los modelos de predicción de las variables de respuesta estudiadas en función de las variables de proceso. | 63 |
| 11 | Contraste de los resultados experimentales con los valores teóricos predichos para cada una de las variables de respuesta evaluadas a las tres réplicas de tortillas funcionales preparadas con la mezcla compuesta optimizada1. | 79 |
| 12 | Resultados del estudio histopatológico. | 81 |

I. RESUMEN

En México las enfermedades cardiovasculares, la diabetes mellitus y los tumores cancerosos son las principales causas de muerte. El cáncer de estómago es uno de los más recurrentes, siendo las lesiones gástricas e intestinales ocasionadas por la bacteria *Helicobacter pylori*, una de las principales causas de este tipo de cáncer. La combinación de maíz azul, mezquite y cálices de jamaica, para la elaboración de alimentos, representa una opción viable para minimizar el efecto nocivo de estas enfermedades; esto, debido a sus altos contenidos de compuestos bioactivos. En esta investigación se desarrolló una mezcla compuesta optimizada a base de harinas de maíz azul extrudido (HMAE), vainas de mezquite fermentadas-extrudidas (HVMFE) y cálices de jamaica (HJ) adecuada para elaborar tortillas funcionales, así como, se realizó un estudio preliminar *in vivo* de prevención del daño intestinal, ocasionado por infección de *H. pylori*, en ratones hembra BALB/c alimentadas con las tortillas funcionales. Para la optimización se usó un diseño experimental L-Optimal (diseño para mezclas); factores: nivel de inclusión de las tres harinas (HMAE = 56.50-82.94%, HVMFE = 1.54-25.73%, HJ = 5.00-15.00%); 16 mezclas. Se elaboraron tortillas a partir de cada mezcla. Se usó el método numérico de Deseabilidad como técnica de optimización para obtener tortillas con las mejores características nutraceuticas [valores máximos de compuestos fenólicos totales (CFT), antocianinas (AT), flavonoides (FT), actividad antioxidante (AAox)] y adecuada aceptabilidad sensorial. Los niveles de inclusión óptimos de cada componente de la mezcla compuesta fueron 82.8% HMAE, 10% HVMFE y 7.2% HJ. Las tortillas funcionales producidas con esta mezcla tuvieron valores altos de CFT (3,559 mg eq. de ácido gálico/100g, bs), AT (11.7 mg eq. de cianidina 3-glucósido/100g, bs), FT (37.7 mg eq. de catequina/100g, bs), AAox (5,912 µmol eq. de Trolox/100g, bs) y valores adecuados de aceptabilidad sensorial (aceptabilidad global = 52.23; valor ubicado entre “ni me

gusta ni me disgusta” y “me gusta ligeramente” en una escala hedónica de 11 puntos), con una deseabilidad global de 0.8. Los ratones infectados con *H. pylori* y alimentados con estas tortillas funcionales y con caseína (control) no mostraron cambios patológicos observables en los órganos estudiados. Esto podría deberse a un tiempo insuficiente empleado para el desarrollo del experimento con los ratones infectados. Se recomienda generar un modelo de estudio con daño gástrico observable antes de reproducir el experimento *in vivo* en el futuro. En conclusión, la fortificación de la harina de maíz azul integral extrudido con cantidades optimizadas de harinas de vainas de mezquite fermentado-extrudido y cálices de jamaica, permitió obtener tortillas funcionales sensorialmente aceptables con potencial nutricional y nutracéutico mejorado. Estas tortillas funcionales son una estrategia novedosa que podría ser usada para reducir las enfermedades crónicas degenerativas en México.

Palabras clave: Optimización, tortillas, alimentos funcionales, mezquite, jamaica, *H. pylori*.

ABSTRACT

In Mexico, cardiovascular diseases, diabetes mellitus, and cancerous tumors are the main causes of death. Stomach cancer is one of the most recurrent, with gastric and intestinal lesions caused by the *Helicobacter pylori* bacteria, one of the main causes of this type of cancer. The combination of blue corn, mesquite and hibiscus calyxes for food production represents a viable option to minimize the harmful effects of these diseases; this is due to their high content of bioactive compounds. In this research, an optimized composite mixture, suitable for making functional tortillas, based on extruded blue corn flour (EBCF), fermented-extruded mesquite pods (FEMPF), and hibiscus calyxes (HCF) was developed. A preliminary *in vivo* study in female BALB/c mice to investigate the intestinal damage prevention caused by *H. pylori* infection due to functional tortillas feeding was also conducted. For optimization, an L-Optimal experimental design (design for mixtures) was used; factors: inclusion level of the three flours (EBCF = 56.50-82.94%, FEMPF = 1.54-25.73%, HCF = 5.00-15.00%); 16 mixtures. Tortillas were made from each mixture. The numerical Desirability method was used as an optimization technique to obtain tortillas with the best nutraceutical characteristics [maximum values of total phenolic compounds (TPC), anthocyanins (TA), flavonoids (TF), antioxidant activity (AoxA)] and adequate sensory acceptability. The optimal inclusion levels of each component of the composite mixture were 82.8% EBCF, 10% FEMPF and 7.2% HCF. Functional tortillas produced with this mixture had high values of TPC (3,559 mg eq. of gallic acid/100 g, db), TA (11.7 mg eq. of cyanidin 3-glucoside/100 g, db), TF (37.7 mg eq. of catechin/100 g, db), AAox (5,912 μ mol eq. of Trolox/100 g, db) and adequate values of sensorial acceptability (global acceptability = 52.23; value located between “I neither like nor dislike” and “I like it slightly” on an 11-point hedonic scale), with an overall desirability of 0.8. Mice infected with *H. pylori* and fed with these functional tortillas and with casein (control) did not show observable

pathological changes in the organs studied. This could be due to insufficient time spent developing the experiment with the infected mice. It is recommended to generate a study model with observable gastric damage before reproducing the *in vivo* experiment in the future. In conclusion, the fortification of extruded whole grain blue corn flour with optimized amounts of flours from fermented-extruded mesquite pods and hibiscus calyxes, allowed obtaining sensorially acceptable functional tortillas with improved nutritional and nutraceutical potential. These functional tortillas are a novel strategy that could be used to reduce chronic degenerative diseases in Mexico.

Keywords: *Optimization, tortillas, functional foods, mesquite, hibiscus, H. pylori.*

II. INTRODUCCIÓN

La desnutrición, el sobrepeso, la obesidad y las enfermedades crónico-degenerativas, como la hipertensión, las cardiopatías, la diabetes mellitus y los tumores malignos, son los principales problemas de salud y las principales causas de mortalidad en México (ENSANUT, 2022).

De acuerdo con la Organización Mundial de Salud uno de los principales tipos de cáncer con alta prevalencia y mortalidad es el de estómago (GLOBOCAN, 2022a). Este se define como la neoplasia maligna que tiene su origen en la proliferación y/o crecimiento acelerado de células que revisten el estómago (Guanyiao y col., 2024). Actualmente, la etiología del cáncer gástrico (CG) no ha sido reportada completamente, sin embargo, se han descrito diferentes factores que favorecen su desarrollo, destacando entre ellos, la carga genética, la edad y/o el sobrepeso. Aunado a los factores ya mencionados, diferentes autores concuerdan en que la infección por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), aumenta el riesgo de padecer dicha patología (Zheng y col, 2024; NIH, 2023). Asimismo, esta bacteria es reconocida como el primer carcinógeno bacteriano formalmente identificado y es uno de los patógenos más prevalentes en humanos, con más de la mitad de la población mundial colonizada por ella. Es importante destacar que, si no se trata, la colonización por esta bacteria tiende a persistir durante toda la vida (Kusters y col., 2006).

Investigaciones recientes han demostrado que las dietas ricas en antioxidantes protegen a los humanos contra enfermedades degenerativas como la obesidad, cáncer, diabetes, enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas como enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, esclerosis múltiple, esclerosis lateral amiotrófica, entre otras, causadas por los radicales libres (Adefegha y col., 2018). El consumo regular de alimentos que son naturalmente ricos en antioxidantes, como frutas, verduras, cereales integrales, nueces y

semillas, leguminosas y condimentos a base de hierbas, ayuda a mejorar el estado antioxidante del cuerpo, combatiendo así las enfermedades crónico-degenerativas (Adefegha y col., 2018). Los compuestos fenólicos presentes en alimentos de origen vegetal desempeñan un papel importante como antioxidantes con una alta capacidad para eliminar los radicales libres, lo que depende de su estructura; estudios anteriores han establecido que los ácidos fenólicos y los flavonoides son los compuestos fenólicos más abundantes que se encuentran en las plantas y los alimentos de origen vegetal (Adefegha y col., 2018). A este tipo de alimentos se les conoce como alimentos funcionales, los cuales describen la importancia de los alimentos para promover la salud y prevenir enfermedades, además de su función principal de proporcionar al cuerpo la cantidad necesaria de nutrientes esenciales, como proteínas, carbohidratos, vitaminas, grasas y aceites necesarios para su supervivencia saludable (Adefegha y col., 2018).

Los granos de maíz pueden ser considerados un alimento funcional ya que proporcionan macronutrientes, incluidos proteínas, almidón, grasas y micronutrientes, incluidos minerales y vitaminas, así como también altos niveles de compuestos bioactivos (Bon-Padilla y col., 2022). Los principales compuestos bioactivos que se encuentran en el grano de maíz son las fibras dietéticas solubles e insolubles, incluidas lignina y celulosa, y, en segundo lugar, arabinosilanos, hemicelulosa y β -glucanos (Bon-Padilla y col., 2022). Además, el maíz contiene fitoquímicos que ayudan a mejorar la salud y prevenir enfermedades, como ácidos fenólicos, carotenoides (maíz amarillo y naranja) y antocianinas (maíz azul, morado y negro) y sus concentraciones dependen de la variedad del grano, el manejo agronómico, la interacción variedad-ambiente y el manejo postcosecha (Bon-Padilla y col., 2022). Actualmente, el interés por el maíz pigmentado ha recibido una mayor atención debido a la conciencia de los consumidores sobre sus posibles beneficios para la salud y sus propiedades de color. Los genotipos azules tienen múltiples propiedades funcionales (protección contra el estrés oxidativo, actividad

hipoglucemiante, reduce la presión arterial, el colesterol sérico y los niveles de triglicéridos, entre otras actividades). Estas propiedades nutraceuticas están asociadas a la presencia de fitoquímicos (ácidos fenólicos, antocianinas) (Gámez-Valdez y col., 2021).

El mezquite (*Prosopis laevigata*) es un árbol leguminoso ampliamente distribuido en Aridoamérica. El fruto maduro de esta leguminosa es una vaina, que actualmente se encuentra subutilizada y posee un alto potencial nutricional; las especies de *Prosopis* eran un alimento básico importante para los pueblos indígenas de las regiones áridas de América antes de la llegada de los europeos (Díaz-Batalla y col., 2018). La harina de vainas de mezquite es rica en fibra (17-19%), proteínas (15-21%), azúcares solubles (20%) y polifenoles, siendo la valina el único aminoácido limitante, por lo que esta harina es un ingrediente versátil con gran potencial para la industria alimentaria (Armijo-Nájera y col., 2019). Se ha informado que las vainas de la especie *Prosopis* son una fuente de compuestos bioactivos con actividades antioxidantes, antiinflamatorias y antihipertensivas (Díaz-Batalla y col., 2018). Además, la harina de vaina de *Prosopis laevigata* es una buena fuente de lisina, aminoácidos azufrados y compuestos fenólicos totales, con mayor capacidad de eliminación de radicales libres que la soya y el frijol común (Díaz-Batalla y col., 2018).

Por otro lado, México lidera la producción de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) en América, destacando el cáliz seco de la fruta en la elaboración de concentrados y decocciones (SIAP, 2023). El cáliz de jamaica contienen alrededor del 40% de fibra dietética, ofreciendo un potencial significativo para fortificación de alimentos con el propósito de incrementar su valor nutraceutico (Ariza y Flores, 2014). Diferentes investigaciones reportan presencia importante de compuestos fenólicos, principalmente flavonoides y antocianinas, en los cálices de jamaica, lo cual les brinda un potencial antioxidante y farmacológico preventivo de enfermedades

crónico-degenerativas como las mencionadas anteriormente (Agüero y col., 2014; Ariza y Flores, 2014).

Diferentes compuestos bioactivos funcionales de los alimentos pueden conferir de forma sinérgica/aditiva una protección abrumadora contra estas enfermedades degenerativas al modular/alterar las actividades de enzimas críticas de importancia fisiológica (Adefegha y col., 2018). La combinación de cereales, leguminosas y partes anatómicas de plantas, como el maíz azul, el mezquite y los cálices de jamaica, para la elaboración alimentos, representa una opción viable para minimizar el efecto nocivo de estas enfermedades; esto debido a sus altos contenidos de compuestos bioactivos. En nuestro país, el principal producto alimenticio del maíz es la tortilla (los mexicanos consumimos aproximadamente 1,400 millones de tortillas diariamente), por lo que representa un vehículo viable para mejorar el estado nutricional de los mexicanos y reducir incidencia de enfermedades crónico-degenerativas (Milán-Carrillo y col., 2006). Las tortillas obtenidas a partir de harinas producidas por extrusión presentan características similares a las tortillas obtenidas de harinas comerciales de maíz nixtamalizado, pero con importantes ventajas tecnológicas y ecológicas (ahorro significativo de agua, energía, tiempo y sin producir efluentes contaminantes), así como nutricionales (aumento importante de la digestibilidad de la proteína, alta retención de nutrimentos y la retención de todos las componentes anatómicos de granos y plantas procesados por extrusión), respecto al proceso tradicional de nixtamalización (Reyes-Moreno y col., 2018; Milán-Carrillo y col., 2006). Sin embargo, una de las principales limitaciones de las tortillas es la falta de lisina y triptófano (Gámez-Valdez y col., 2021). Pero, la fortificación de productos de maíz con leguminosas, como el mezquite, mejora sustancialmente la calidad de la proteína, ya que estas son ricas en los aminoácidos esenciales lisina y triptófano (Bon-Padilla y col., 2022; Félix-Medina y col., 2020; 2021; Díaz-Batalla y col., 2018). Además, las leguminosas, como el mezquite, así como los cálices de jamaica, tienen

el potencial de proveer de contenidos importantes de compuestos bioactivos, como fibra y antioxidantes (Bon-Padilla y col., 2022; Félix-Medina y col., 2020; 2021; Díaz-Batalla y col., 2018; Agüero y col., 2014; Ariza y Flores, 2014).

En esta investigación se desarrolló una mezcla compuesta optimizada a base de harinas de maíz azul extrudido (HMAE), vainas de mezquite fermentado-extrudido (HVMFE) y jamaica (HJ) adecuada para elaborar tortillas funcionales.

III. REVISIÓN LITERARIA

A. ENFERMEDADES CRÓNICO-DEGENERATIVAS.

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), las enfermedades crónico-degenerativas o bien enfermedades no transmisibles (ENT) son afecciones de larga duración que generalmente progresan lentamente y empeoran con el tiempo. Estas enfermedades incluyen, pero no se limitan a, la diabetes, enfermedades cardiovasculares (como los infartos de miocardio y los accidentes cerebrovasculares), enfermedades respiratorias crónicas y cáncer. Se caracterizan por un largo periodo de tratamiento y la necesidad de un tratamiento continuo en lugar de un tratamiento radical (OMS, 2023a).

Las ENT o crónico-degenerativas son responsables de 41 millones de muertes a nivel mundial por año, equivalentes al 71% de los fallecimientos anuales que se producen, lo que las sitúa como principal causa de muerte y discapacidad en el mundo (OMS, 2023a).

1. Enfermedades crónico-degenerativas en México.

En México, las enfermedades crónico-degenerativas como la diabetes, hipertensión, enfermedades cardiovasculares y cáncer presentan un incremento alarmante en los últimos años (ENSANUT, 2022).

a. Diabetes mellitus

La diabetes es una enfermedad crónica que ocurre cuando el páncreas no produce suficiente insulina o cuando el cuerpo no puede utilizar de manera eficiente la insulina que genera. La insulina es una hormona esencial para regular los niveles de glucosa en la sangre. La hiperglucemia, o elevación del azúcar en sangre, es una consecuencia frecuente de la diabetes mal controlada y, con el tiempo, puede causar daños significativos en varios sistemas del cuerpo, especialmente en los nervios y los vasos sanguíneos (OMS, 2023b).

La prevalencia de la diabetes mellitus en México es del 9.4% de la población adulta, según la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT, 2022). En 2023, se estimó que aproximadamente 12 millones de personas mayores de 20 años padecen diabetes en el país, siendo la diabetes tipo 2 la más común y está relacionada con factores como la obesidad y el estilo de vida sedentario (ENSANUT, 2022; FMD AC, 2023).

b. Hipertensión.

La presión que la sangre ejerce sobre las paredes arteriales varía a lo largo del día. La presión arterial alta, o hipertensión, se refiere a una presión que se mantiene constantemente por encima de los niveles normales. La presión arterial se mide en dos componentes: la presión sistólica, que es la fuerza en las arterias cuando el corazón late, y la presión diastólica, que es la fuerza en las arterias cuando el corazón está en reposo. Una presión arterial sistólica normal es inferior a 120 milímetros de mercurio (mm Hg), mientras que la diastólica normal es inferior a 80 mm Hg, expresándose comúnmente como 120/80 mm Hg (Desai, 2023).

A nivel mundial esta patología es más común en mujeres que en hombres, los factores de riesgo que predominan son el grupo etario de entre 60 a 80 años, la obesidad, sobrepeso, sedentarismo, tabaquismo, alcoholismo, la predisposición genética, así como otros factores dietéticos (Álvarez-Ochoa y col, 2022).

La hipertensión afecta al 30% de la población adulta en México, lo que equivale a unos 24 millones de personas. La ENSANUT (2022) reportó que la prevalencia de hipertensión ha aumentado significativamente en las últimas décadas. Cabe resaltar que un alto porcentaje de personas con hipertensión no están conscientes de su condición, y entre los que saben, muchos no siguen un tratamiento adecuado (Basto-Abreu y col, 2022., Rosas-Peralta y col, 2016).

c. Enfermedades cardiovasculares.

1) Sobrepeso y Obesidad.

El sobrepeso se refiere a tener un peso superior al rango considerado 'normal'. Aunque no es perfecto, el índice de masa corporal (IMC), que se calcula dividiendo el peso en kilogramos por la altura en metros al cuadrado, es ampliamente utilizado para clasificar la insuficiencia ponderal, el peso normal, el sobrepeso y la obesidad. Se considera sobrepeso un IMC entre 25 y 29.9 kg/m², mientras que la obesidad se define con un IMC superior a 30 kg/m² (MedlinePlus, 2019).

En México, el sobrepeso y la obesidad son problemas de salud significativos que afectan a una gran parte de la población. De acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) de 2018, el 39.1% de los adultos de 20 años o más tienen sobrepeso, mientras que el 36.1% padece obesidad, lo que significa que el 75.2% de los adultos tienen algún grado de exceso de peso (PROFECO, 2018).

La población mexicana enfrenta la "doble carga de la malnutrición", lo que significa que, por un lado, tiene problemas de desnutrición y por otro, de exceso de peso. Aunque parecen problemas opuestos, están estrechamente vinculados. Por ejemplo, un individuo que sufrió desnutrición en la niñez desarrolla adaptaciones metabólicas para sobrevivir con dietas bajas en calorías. Estas adaptaciones pueden hacer que, en la vida adulta, ese individuo sea más propenso a padecer sobrepeso u obesidad debido a cambios en la dieta (Velasco-Torres y col., 2020).

2. Cáncer

a. Generalidades del Cáncer.

El cáncer está definido como un proceso de crecimiento y diseminación incontrolados de células (OMS, 2022), el cual es capaz de desarrollarse en todos los tipos celulares del

organismo y abarca a un grupo extenso y heterogéneo de enfermedades que desencadenan en una patología común (Thun y col., 2018). El cáncer se caracteriza por un desequilibrio entre los ciclos de proliferación y los mecanismos normales de apoptosis, lo que conduce al deterioro de los órganos vitales formados por las células afectadas y finalmente, a la muerte del individuo (Lecuona y col., 2015; Thun y col., 2018).

La clasificación internacional de las enfermedades oncológicas en su tercera edición (ICD-O-3) indica que los cánceres pueden ser catalogados en función del tipo de tejido del que se originan en seis categorías importantes (cuadro 1); carcinoma, sarcoma, mieloma, leucemia, linfoma y mezclado (Mandal, 2019).

Datos reportados por agencias internacionales para la investigación del cáncer pertenecientes a la Organización Mundial de la Salud (OMS), indican que los cinco tipos de cáncer de mayor incidencia en el año 2020 fueron: cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer colorrectal, cáncer de próstata y cáncer gástrico (CG) (Figura 1), siendo el CG el quinto tipo más común y de igual manera se posiciona en la quinta posición en lo referido a la mortalidad (GLOBOCAN, 2022a).

Tomando en cuenta la tasa de incidencia y mortalidad de los tipos de cáncer en ambos sexos en México durante el año 2022, el cáncer gástrico logro posicionarse dentro de los primeros diez lugares (GLOBOCAN, 2022b).

b. Cáncer Gástrico (CG).

El CG se define como la neoplasia maligna que tiene su origen en la proliferación y/o crecimiento acelerado de células que revisten el estómago (Guanyiao y col., 2024)

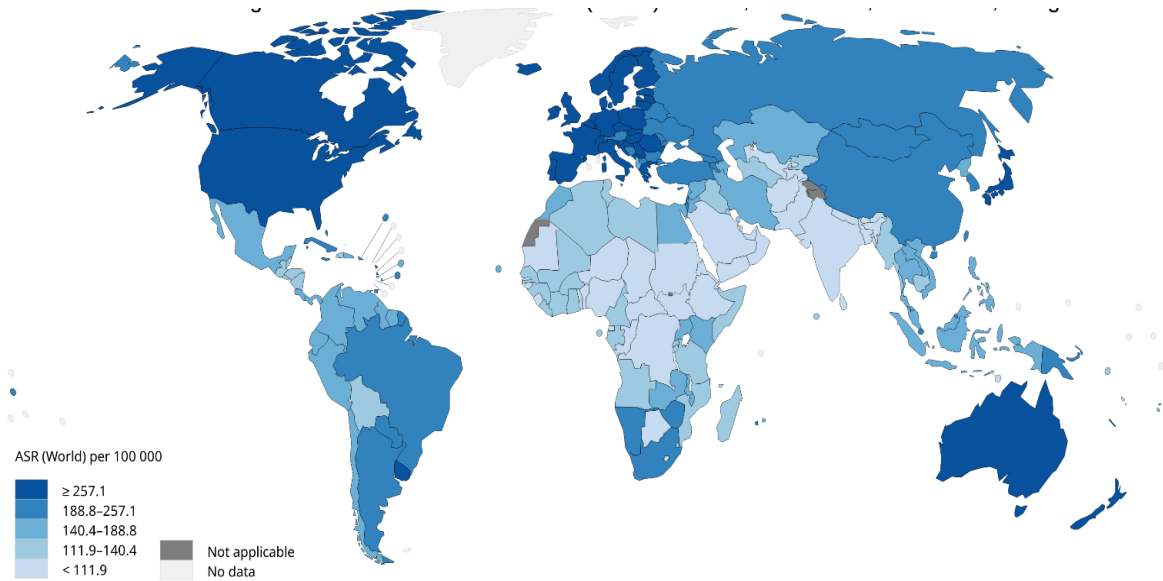


Figura 1. Estadísticas de cáncer. Mapa global de las tasas de incidencia estandarizadas por edad (mundial), de todos los cánceres en hombres en el año 2018. Estados Unidos, Canadá y Australia son algunos de los países que presentan una mayor incidencia de cáncer en la población masculina (GLOBOCAN, 2020a).

Cuadro 1. Categorías del cáncer

| Tipo de cáncer | Características |
|-----------------------|--|
| Carcinoma | Se origina de la capa epitelial de las células. Representa del 80-90% de todos los casos de cáncer. Existen dos tipos: adenocarcinoma y carcinoma de células escamosas. El adenocarcinoma se produce en las células glandulares y suele afectar a las mucosas, mientras que el carcinoma de células escamosas se origina en epitelio escamoso. |
| Sarcoma | Se origina en los tejidos conectivos y de apoyo (músculos, huesos, cartílago y grasa). |
| Mieloma | Se origina en las células plasmáticas de la médula. |
| Leucemia | Agrupación a las neoplasias sanguíneas. Afecta a los tejidos que forman la sangre en el organismo, desde la médula ósea hasta el sistema linfático. |
| Linfoma | Cáncer del sistema linfático. Se presentan afecciones a ganglios linfáticos en sitios específicos como lo son el estómago, el cerebro y los intestinos, entre otros. |
| Mezclado | Tiene dos o más componentes de diferentes tipos de neoplasias. |

Modificado de Mandal, 2019.

Como se observó en el Cuadro 1, existen diferentes categorías en las que pueden ser catalogados los tipos de cáncer y cabe destacar que los tumores malignos gástricos frecuentemente son adenocarcinomas, es decir, se originan en las glándulas (SEOM, 2020).

1) Sintomatología del CG.

El cáncer gástrico en una etapa inicial pocas veces causa síntomas, razón por la cual dicha patología es tan difícil de detectar tempranamente. Sin embargo, algunos de los signos y síntomas que se pueden incluir son la pérdida anormal de peso, acidez (agruras) o indigestión, vómito (con o sin sangre), recuento bajo de glóbulos rojos y sangre en las heces fecales (ACS, 2017).

2) Diagnóstico del CG.

Actualmente, existen diferentes pruebas básicas empleadas para la detección del CG, análisis de sangre, ecografía del estómago, tomografías, entre otras, sin embargo, resultados anormales en alguno de estos exámenes conllevan a la realización de una endoscopia superior para establecer un diagnóstico definitivo (Niederhuber y col., 2022).

3) Factores de riesgo del CG.

Actualmente, la etiología del CG no ha sido reportada completamente, sin embargo, se han descrito diferentes factores que favorecen su desarrollo, destacando entre ellos, la carga genética, la edad y/o el sobrepeso. Aunado a los factores ya mencionados, diferentes autores concuerdan en que la infección por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), aumenta el riesgo de padecer dicha patología (Zheng y col., 2024; NIH, 2023).

4) *Helicobacter pylori*.

Helicobacter pylori es una bacteria Gram negativa, de forma curva y espiral, móvil, no fermentadora y no oxidante, que mide entre 2.5 y 4 micras de largo por 0.5 a 1 micra de ancho, con un grupo de 4 a 8 flagelos en uno de sus extremos. Esta bacteria es reconocida como el primer carcinógeno bacteriano formalmente identificado y es uno de los patógenos más comunes en humanos, con más de la mitad de la población mundial colonizada por ella. Es importante destacar que, si no se trata, la colonización por esta bacteria tiende a persistir durante toda la vida (Kusters y col., 2006).

a) Vías de transmisión de *H. pylori*.

Actualmente, las vías de transmisión de *H. pylori* no ha sido completamente elucidadas, sin embargo, la comunidad científica sigue luchando por comprender como dicha bacteria se transmite dentro de la población humana. Algunas de las maneras en la que la infección se puede ocasionar es mediante las transmisiones fecal-oral, gástrica-oral y fecal-oral (Camargo y Boschian., 2012; Torres y col., 2004).

b) Factores de riesgo de la infección por *H. pylori*.

Helicobacter pylori al ser una bacteria patógena puede causar infecciones en el estómago y está asociada con varias condiciones, incluyendo úlceras pépticas y cáncer gástrico. Algunos de los factores de riesgo conocidos para la infección por *H. pylori* incluyen edad, en donde la prevalencia de la infección aumenta con la edad, siendo más común en adultos mayores, hábitos de higiene debido a que la transmisión de dicha infección parece ocurrir principalmente a través de la vía fecal-oral, por lo que los malos hábitos de higiene, como el lavado inadecuado de las manos, pueden aumentar el riesgo de infección, hacinamiento y el consumo de agua contaminada (Malfertheiner y col., 2017; Graham y Yamaoka., 2010; Leal y col., 2011).

c) Sintomatología de la infección por *H. pylori*.

Los síntomas por la infección de *H. pylori* son muy variados y frecuentemente comienzan con dolor abdominal especialmente en la parte superior del abdomen, dispepsia o indigestión crónica o recurrente es otro de los síntomas presentados (Malfertheiner y col., 2017; Moayyedi y col., 2017).

La infección por *H. pylori* puede provocar inflamación en el revestimiento del estómago, lo que puede causar molestias y dolor. De igual forma la presencia de úlceras pépticas es otra posible consecuencia (Graham y Yamahoka., 2010).

d) Diagnóstico de la infección por *H. pylori*.

Actualmente existen diferentes tipos de diagnóstico para la infección por *H. pylori* tales como, prueba de urea en aliento (breath Test), esta prueba detecta la presencia de ureasa producida por *H. pylori* en el aliento después de que el paciente ha ingerido urea marcada con carbono-13 o carbono-14. Prueba serológica, dicha prueba detecta anticuerpos en la sangre del paciente que son producidos en respuesta a la infección por *H. pylori*. Sin embargo, no puede distinguir entre infección activa y pasada (Leal y col., 2011). Prueba de antígeno fecal, en donde se detecta la presencia de antígeno de la bacteria en las heces del paciente, lo que indica una infección activa. Prueba rápido de ureasa, se realiza durante la endoscopia y detecta la presencia de ureasa producida por *H. pylori* en una muestra de tejido gástrico (Malfertheiner y col., 2017; Moayyedi y col., 2017).

e) Tratamientos para la infección por *H. pylori*.

En una etapa temprana de la infección el tratamiento suele ser una terapia de erradicación triple en donde este régimen de tratamiento combina un inhibidor de la bomba de protones (IBP) con dos antibióticos, generalmente claritromicina y amoxicilina o metronidazol. Se administra

durante 7 a 14 días y se considera terapia de primera línea. De igual forma se suele utilizar la terapia de erradicación cuádruple, este tratamiento incluye un IBP, un antibiótico, bismuto y tetraciclina. Se usa como alternativa en casos de resistencia a los antibióticos de la terapia triple (Kuster y col., 2006).

Aunado a los tratamientos mencionados tenemos a la terapia de erradicación con levofloxacina en donde se combina levofloxacina con IBP y otros antibióticos, este tratamiento se considera cuando los pacientes no responden a los tratamientos estándar (Ontanilla, 2023).

f) Tratamientos naturales.

Durante muchos años, se había asumido, basándose en estudios caso-control, que el consumo de frutas, vegetales, legumbres y fibra reduciría el riesgo de cáncer gástrico (CG). Sin embargo, estudios de cohorte han arrojado resultados contradictorios, mostrando un efecto beneficioso en algunos casos y ningún efecto en otros. En conjunto, el consumo de estos alimentos podría desempeñar un papel preventivo modesto en el desarrollo del CG (Rodrigo y Riestra, 2007). Por lo anterior, se ha estudiado el efecto de flavonoides, fenólicos totales y actividad antioxidante en diferentes productos primarios y su efecto en diferentes tipos de cáncer (Saez-Lopez y col., 2017).

B. MALNUTRICIÓN.

La nutrición es un proceso fundamental para el organismo, que implica la asimilación de nutrientes necesarios para realizar funciones vitales como el crecimiento, la reproducción y el mantenimiento de la salud. En este contexto, la "malnutrición" se refiere a los desequilibrios en el consumo de calorías y/o nutrientes por parte de las personas, ya sea por déficit o exceso. Esta condición es una de las principales preocupaciones de salud a nivel mundial y puede ser causada por la pobreza, malas elecciones alimenticias, etc. (Serón-Arbeloa y col., 2022; OMS, 2024c).

Datos reportados por agencias internacionales para la investigación de la nutrición de la población pertenecientes a la Organización Mundial de la Salud, indican que el estatus socioeconómico se vincula con la calidad nutricional de la dieta de la población. En ciertos casos, el riesgo de obesidad en familias con inseguridad alimentaria se debe a que eligen comprar alimentos económicos que ofrecen altas cantidades de energía, como lo son los alimentos ultraprocesados (OMS, 2024c).

1. Alimentos ultraprocesados.

Algunos alimentos requieren procesos industriales para garantizar su seguridad o prolongar su vida útil. Sin embargo, los llamados alimentos ultraprocesados son aquellos que, después de este procesamiento, adquieren características que los hacen listos para el consumo inmediato, con poca o ninguna preparación. Estos productos suelen ser más atractivos y, a veces, más económicos que el alimento original (Marti y col, 2021).

Actualmente, la etiología de estos alimentos no ha sido elucidada completamente, sin embargo, la definición más utilizada es la propuesta por el equipo de Monteiro (2016) y es la siguiente: "Formulaciones de varios ingredientes que, además de sal, azúcar, aceites y grasas, incluyen sustancias alimenticias no utilizadas en las preparaciones culinarias, en particular, saborizantes, colorantes, edulcorantes, emulgentes y otros aditivos utilizados para imitar las cualidades sensoriales de los alimentos no procesados o mínimamente procesados y de sus preparaciones culinarias, o para enmascarar cualidades indeseables del producto final". Tratándose de alimentos de alta densidad energética y baja calidad nutricional que mantienen pocas o ninguna de sus características iniciales. (Monteiro y col, 2016; Marti y col, 2021).

Con base en lo mencionado anteriormente, se pretende mejorar la calidad de la nutrición de la población con el consumo de alimentos funcionales.

C. ALIMENTOS FUNCIONALES.

A pesar de que aún no existe una definición universalmente aceptada para los alimentos funcionales, se entiende en términos generales que son aquellos alimentos o componentes que, además de proporcionar una nutrición básica, aportan beneficios para la salud y/o disminuyen el riesgo de enfermedades. Un alimento o componente funcional puede ser un macronutriente con un efecto fisiológico específico o un micronutriente esencial. Sin embargo, también puede ser un componente que, aunque no sea altamente nutritivo o esencial, modula alguna función del organismo para reducir el riesgo de enfermedad, como la fibra y ciertos microorganismos viables (Sarmiento-Rubiano, 2006).

De manera general, “los alimentos funcionales tienen en su composición (de manera natural o por adición) componentes funcionales como fitoquímicos (ej. compuestos fenólicos), prebióticos (ej. fibra) o probióticos (ej. lactobacilos) entre otros, los cuales proveen beneficios a la salud de los consumidores; asimismo, también se consideran como AF aquellos a los que se les ha removido algún componente del alimento con potencial efecto negativo en la salud (ej. alérgenos o irritantes). Por otro lado, dichos alimentos deben seguir siendo alimentos y demostrar sus beneficios a la salud en cantidades que normalmente se consumen en la dieta. Es decir, no son capsulas, comprimidos o suplementos alimenticios” (Villagrán y col, 2022).

En este sentido, los alimentos funcionales no se limitan a los alimentos procesados; también incluyen alimentos tradicionales como el maíz, el frijol, la avena y el aceite de oliva, que contienen componentes funcionales como el licopeno, los beta-glucanos o el ácido oleico. Estos componentes tienen propiedades beneficiosas para la salud, además de sus valores nutricionales (Villagrán y col, 2022).

D. MAÍZ AZUL (*Zea Mays* L.).

1. Generalidades.

Zea mays L. (maíz) es una especie perteneciente a la familia Gramineae. Es un cultivo anual de gran desarrollo vegetativo, cuyo tallo soporta de 10-20 hojas. El sistema radicular de tipo fasciculado está formado por raíces seminales, secundarias y adventicias que aparecen en el último lugar, regularmente en los nudos situados por encima de la superficie del suelo (Strable y Scanlon, 2009).

En México, el cultivo de maíz azul ronda las 3,000 hectáreas anuales. En 2020, el principal estado productivo fue Puebla con un rendimiento de 3.57 toneladas por hectárea, seguido únicamente por Chihuahua, con un rendimiento neto de 3.04 toneladas por hectárea (SIAP, 2020).

2. Estructura del grano.

El grano de maíz está conformado por 4 partes anatómicas: (1) el pericarpio que constituye la cubierta externa, que bien puede ser una capa cerosa o una cascarilla según el tipo de grano, su principal función es evitar el intercambio de agua entre el grano y el ambiente. 2) El endospermo, que funciona como almacén energético, constituye hasta el 80% del peso seco del mismo. (3) El embrión y el (4) pedicelo, cuya función es conectar al grano con el olote (Jackson y Shandera, 1995).

3. Composición proximal del maíz azul.

Los granos y subproductos de maíz contienen una buena relación de nutrimentos y su composición cambia según la variedad, la constitución genética y los factores ambientales. En México, los granos de maíz cultivados reportan alrededor del 10% de proteína, 5% de grasa,

76% de carbohidratos y el resto es conformado por fibra cruda y cenizas como se observa en el Cuadro 2 (Jackson y Shandera, 1995).

4. Compuestos bioactivos del maíz azul.

El maíz azul es ampliamente reconocido por su alta concentración de compuestos bioactivos, tales como compuestos fenólicos, antocianinas, carotenoides y fibra dietética, lo que le otorga un notable valor nutracéutico. Según Sánchez y colaboradores (2024), el maíz azul contiene entre 39.1 y 45.5 mg de compuestos fenólicos libres, y entre 95.5 y 220.7 mg de compuestos fenólicos ligados, medidos en equivalentes de ácido gálico (EAG) por cada 100 gramos, con el ácido ferúlico como el compuesto fenólico predominante. Además, estudios han reportado que el contenido total de antocianinas en el maíz azul oscila entre 2.63 y 6.87 mg en equivalentes de cianidin-3-O-glucósido (EC3G) por cada 100 gramos (Serna y col., 2013; Sánchez y col., 2024).

a. Tortilla de maíz.

La tortilla de maíz es un elemento esencial en la dieta mexicana y tiene una profunda importancia cultural e histórica. Originada hace aproximadamente 7,000 años, el maíz, también conocido como maíz, fue domesticado en México y ha sido una parte integral de la dieta y la cultura local desde entonces. Los olmecas, mayas y mexicas (aztecas) consideraban el maíz como un alimento sagrado y necesario (Escalante-Aburto y col, 2013).

Las tortillas de maíz no solo son un alimento básico, sino también una fuente importante de fibra, calcio, ácido fólico y vitaminas del complejo B. Estos nutrimentos son esenciales para funciones corporales saludables y contribuyen a una dieta balanceada. Además, las tortillas son bajas en calorías y grasas, lo que las hace una opción saludable incluso para quienes siguen dietas de control de peso, sin embargo, la calidad de las proteínas del maíz es pobre, ya que

Cuadro 2. Composición química (g/100g) del maíz azul.

| Componente | Contenido |
|---------------------------|------------------|
| Proteína | 9.9 |
| Grasa | 5.2 |
| Cenizas | 1.4 |
| Fibra cruda | 2.1 |
| Carbohidratos disponibles | 76.0 |

Tomado y modificado de CONAL, 1990.

son deficientes en los aminoácidos esenciales lisina y triptófano (Milán-Carrillo y col, 2004).

E. MEZQUITE (*Prosopis laevigata*).

1. Generalidades.

El género *Prosopis*, forma parte de la familia Fabaceae, y es comúnmente conocido como mezquite. El género es comprendido por 44 especies, distribuidas principalmente por las regiones áridas y semiáridas de Asia, África y América (Felker y col., 2013). En México, el cultivo de mezquite rebasa los 3.5 millones de hectáreas sólo en el centro-norte del país, incluyendo 9 especies autóctonas (Sauceda y col., 2014). El fruto maduro del género *Prosopis*, es una vaina indehisciente conformada por exocarpo, mesocarpo y un endocarpo leñoso que contiene a la semilla (Felker y col., 2013; Rodríguez-Sauceda y col., 2014).

2. Composición química del mezquite.

Felker y colaboradores han reportado que la composición química del fruto es rica en proteínas libres de gluten, el cual, alcanza porcentajes que van del 40 al 60 en semilla y del 9 al 11 en mesocarpo, sin embargo, su proteína es limitante en aminoácidos azufrados y el mesocarpo presenta elevadas cantidades de azúcares (31-60%), destacando la sacarosa como se observa en el Cuadro 3 (Felker y col., 2013).

De igual forma, estas especies, han sido identificadas como una buena fuente de compuestos fenólicos con actividad antioxidante, antiinflamatoria, antihipertensiva e hipoglucémica (Pérez y col., 2014; Schmeda y col., 2015).

3. Fermentación de la vaina de mezquite.

Díaz-Batalla en el año 2019 realizó una investigación en donde obtuvo una harina integral fermentada de la vaina de mezquite (*Prosopis laevigata*). Para su obtención, un kg de harina se dispersó en 2 L de agua, posteriormente se pasteurizó e inoculó con

Cuadro 3. Composición química (g/100g) de la vaina de mezquite.

| Componente | Contenido |
|---------------------------|------------------|
| Proteína | 36.51 |
| Grasa | 4.83 |
| Cenizas | 4.14 |
| Fibra cruda | 7.78 |
| Carbohidratos disponibles | 38.45 |

Felker y col, 2023.

Saccharomyces cerevisiae. La fermentación se desarrolló a 27 °C durante 5 días, hasta el agotamiento de los azúcares. Una vez concluida la fermentación, la mezcla fermentada se deshidrató en estufa de convección (Thermo Scientific, MA, USA) a 65 °C durante 4 h, para su posterior molienda. Dicha harina obtuvo mejoras características nutrimentales en comparación con harinas no fermentadas de la vaina de mezquite (Díaz-Batalla, 2019).

F. JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa*).

1. Generalidades.

Hibiscus, especie *sabdariffa*, es también conocida en México como flor de jamaica. Esta planta pertenece a la familia de las malváceas, es de cultivo anual y puede alcanzar los 2 m de altura promedio (Ortiz-Márquez, 2008).

A nivel mundial, México se encuentra en el séptimo lugar en la producción de jamaica, aportando un 5.14% de la producción global, esta lista es encabezada por China, India y Sudán, quienes alcanzan el 27.76, 17.91 y 9.1% de la producción global, respectivamente. Recientemente, la superficie cultivada de *H. sabdariffa* en nuestro país, alcanzó las 18,654 hectáreas con un rendimiento promedio de 430 kg/ha. Guerrero, Michoacán y Oaxaca son los principales estados productores de jamaica, cuya utilidad supera el 93% de la producción nacional (SIAP, 2019).

2. Composición química del fruto.

Diversos autores afirman que la planta de jamaica puede considerarse una buena fuente de nutrimentos, ya que contiene proteínas de alta calidad, carbohidratos, grasas, fibra y un amplio perfil de compuestos bioactivos como se observa en el Cuadro 4 (Agüero y col., 2014; Ariza y Flores, 2014; Cid-Ortega y Guerrero-Beltrán, 2012).

Cuadro 4. Composición química (g/100g) del cáliz de jamaica.

| Componente | Contenido |
|---------------------------|------------------|
| Proteína | 6.0 |
| Grasa | 20.9 |
| Cenizas | 6.8 |
| Fibra cruda | 38.5 |
| Carbohidratos disponibles | 27.8 |

Agüero y col, 2014.

Además, se han identificado una gran variedad de compuestos bioactivos presentes en el fruto, los cuales son de suma importancia debido a los efectos benéficos que brindan a la salud, donde destaca la presencia de alcaloides, eugenol, β -caroteno, saponinas (β -sitosterol- β -D-galactopiranosido), fitoesteroles (β -sitoesterol, ergoesterol, camposterol, estigmasterol), ceras, pectinas y fibra (Ali-Bradeldin y col., 2005; Hirunpanich y col., 2005). Sin embargo, los compuestos de mayor relevancia farmacológica son los ácidos orgánicos, antocianinas, flavonoides y polisacáridos.

G. EXTRUSIÓN.

1. Generalidades.

La extrusión es una de las metodologías utilizadas para la obtención de harinas. Esta consiste en un proceso continuo, que involucra el uso de un extrusor para la obtención de distintos productos, entre los que se encuentran: pastas, dulces, alimentos para animales, cereales para el desayuno y harinas. Este proceso, a menudo es utilizado para cocinar, texturizar, expandir y formar el alimento deseado (Gearhart y Rosentrater, 2014).

En la extrusión, los parámetros importantes que influyen en la calidad del producto terminado son, el contenido inicial de humedad del material y el tiempo de resistencia, mismo que es influenciado por la velocidad de alimentación, la velocidad del tornillo y la configuración del tornillo (relación de compresión), la geometría del dado, la temperatura y la presión. Particularmente, los atributos sensoriales de los productos extrudidos se ven altamente influidas por variables relacionadas con el equipo y la composición química de la materia prima (Gearhart y Rosentraer, 2014).

La extrusión a temperaturas altas, que pueden ir de los 100 a los 200 °C y altas presiones por corto tiempo (30-120 s) es uno de los procesos tecnológicos de mayor versatilidad para la

elaboración de alimentos, partiendo de granos de cereales y de leguminosas. Su alta productividad, bajos costos de operación, alta eficiencia energética, ahorro de agua, mínima producción de efluentes contaminantes, bajo la premisa de obtener productos de alto valor biológico y elevada digestibilidad de las proteínas, hacen aún más atractivo su uso (Reyes-Moreno y col., 2018). Las suspensiones de harinas precocidas por extrusión son capaces de aumentar su viscosidad rápidamente, tienen una tendencia baja a formar grumos, debido a que los gránulos de almidón son modificados, mostrando alta capacidad de hinchamiento, bajo condiciones tanto de bajas temperaturas, como de altas (Gearhart y Rosentraer, 2014).

2. Componentes del extrusor.

Como ya se mencionó, la cocción por extrusión se realiza en extrusores de alimentos, máquinas en las que el cuerpo operativo principal, es un tornillo o un par de tornillos, instalados en un barril (Figura 2). Durante el procesamiento baro-térmico (presión hasta 20MPa, temperatura 200 °C), el material se mezcla, comprime, funde y plastifica en la parte final del barril (Moscicki y Zuilichem, 2011).

3. Proceso de extrusión.

El principal efecto de la cocción por extrusión es que después de salir de la matriz, el material se expande rápidamente y los extrudidos son similares estructuralmente a un panal, formado por los haces de fibras de proteínas fundidas, por los polímeros que componen al almidón o por una mezcla de estos. Se puede emplear un extrusor de tornillo simple para procesar distintos tipos de productos de diferente forma, color, sabor y textura. Esto requiere de una adecuada distribución de temperatura, presión y contenido de humedad del material durante el procesamiento (Moscicki y Zuilichem, 2011).

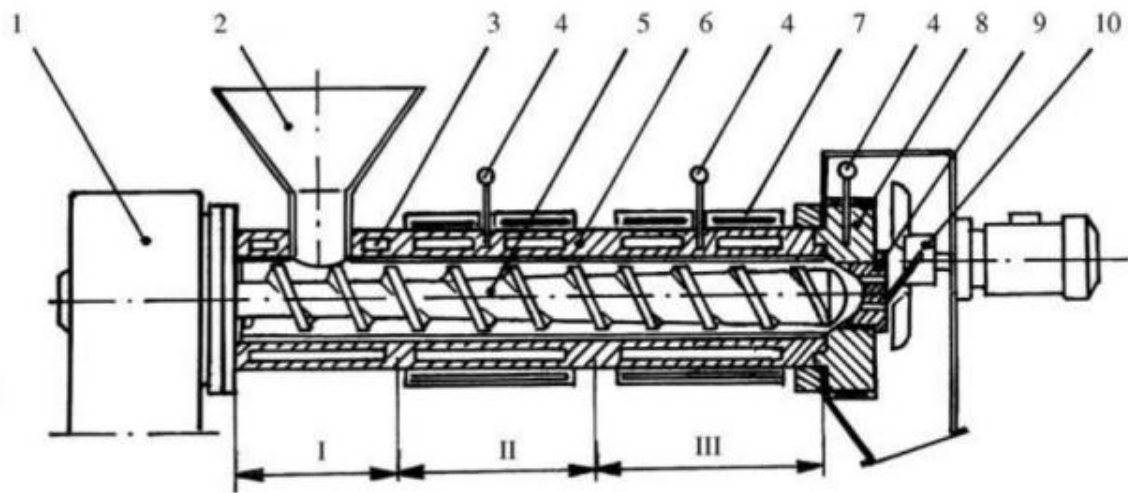


Figura 2. Componentes del extrusor. Sección transversal de un extrusor de alimentos de tornillo simple: 1) motor; 2) alimentador; 3) sistema de enfriamiento; 4) termopar; 5) tornillo; 6) barril; 7) sistema de calentamiento; 8) cabeza; 9) matrices; 10) cortador; I) sección de transporte, II) sección de compresión; III) sección de fundición y plastificación. Obtenido de Moscicki y Zuilichem (2011).

Frecuentemente, la formulación y el desarrollo de nuevos productos se debe realizar empíricamente. La masa fundida que sale del extrusor adquiere la forma de la matriz de este. La siguiente etapa es el secado de los productos, hasta alcanzar un contenido de humedad de 6-8% y un enfriamiento posterior. Durante el procesamiento baro-térmico (presión hasta 20 MPa, temperatura 200 °C), el material se mezcla, comprime, funde y plastifica en la parte final del extrusor. El rango de cambios físicos y químicos en el material procesado depende principalmente de los parámetros del proceso de extrusión y la configuración del extrusor, es decir, su capacidad de trabajo (Moscicki y Zuilichem, 2011).

4. Efectos de la extrusión sobre las propiedades fisicoquímicas de las harinas.

Diversos estudios dirigidos a elucidar los cambios macromoleculares que produce la extrusión han utilizado una gran variedad de técnicas, como la calorimetría diferencial de barrido (DSC), difracción de rayos X (DRX), infrarrojo con análisis por transformada de Fourier (FT-IR). Estas técnicas espectroscópicas, permiten evaluar cambios en la arquitectura y composición molecular de proteínas, de carbohidratos, de ácidos nucleicos, de membranas celulares y de tejidos de los productos de extrusión (García-Rosas y col, 2009).

Paralelamente, uno de los métodos más empleados para la identificación de estructuras cristalinas en almidones nativos o procesados es la difracción de rayos X. Estudios previos en cereales como el maíz y el arroz y pseudocereales, como el amaranto, mostraron que el procesamiento puede inducir cambios en el grado de cristalinidad, impactando en la viscosidad y en otros parámetros fisicoquímicos de los almidones (Roa y col, 2013).

5. Efectos de la extrusión sobre las propiedades tecno-funcionales de las harinas.

La extrusión es una tecnología que expone a las muestras a altas temperaturas y presiones y a su vez, a esfuerzos mecánicos intensos, lo cual, resulta en un cambio en la composición química de las harinas y, por ende, las propiedades tecno-funcionales se ven afectadas.

Wang y col (2019), enumeran una serie de cambios en la funcionalidad de las harinas tras el proceso de extrusión, entre los que destacan el índice de absorción de agua (IAA), el índice de absorción de aceite (IAAc), la capacidad emulsificante (CE), la capacidad de formación de espuma (CFE) y el perfil de viscosidad en harinas de garbanzo, de sorgo y de maíz. Estos cambios en las características funcionales de las harinas se encuentran estrechamente relacionados con la composición química de los granos y las propiedades fisicoquímicas de los extrudidos que las preceden. En este sentido, entre mayor sea la porción proteínica y las temperaturas de tratamiento sean más altas, se verá un aumento en el IAA y una disminución en el IAAc, CE y CFE, por otro lado, cuanto más grande sea el contenido de almidón, los valores de IAA, IAAc, CE y CFE aumentan considerablemente. Finalmente, el perfil de viscosidad se ve influenciado por la temperatura del tratamiento, ya que, a más altas temperaturas, hay mayor desnaturalización de las proteínas y mayor rompimiento de los gránulos de almidón, lo que favorece que las reacciones de Maillard se lleven a cabo y como consecuencia se tenga un aumento en la viscosidad del producto (Wang, 2019).

IV. JUSTIFICACIÓN

La desnutrición, el sobrepeso, la obesidad y las enfermedades crónico-degenerativas, como la hipertensión, las cardiopatías, la diabetes mellitus y los tumores malignos, son los principales problemas de salud y las principales causas de mortalidad en México. La combinación de cereales, leguminosas y partes anatómicas de plantas, como el maíz azul, el mezquite y los cálices de jamaica, para la elaboración de alimentos, representa una opción viable para minimizar el efecto nocivo de estas enfermedades; esto debido a sus altos contenidos de compuestos bioactivos. Además, la fortificación de productos de maíz con leguminosas como el mezquite mejora sustancialmente la calidad de la proteína. En México, la tortilla es el principal derivado del maíz, lo que la convierte en un medio viable para mejorar la nutrición de la población y disminuir la incidencia de enfermedades crónico-degenerativas. Las tortillas obtenidas a partir de harinas producidas por extrusión presentan características similares a las tortillas obtenidas de harinas comerciales de maíz nixtamalizado, pero con importantes ventajas tecnológicas y ecológicas (ahorro significativo de agua, energía, tiempo y sin producir efluentes contaminantes), así como nutricionales (aumento importante de la digestibilidad de la proteína, alta retención de nutrientes y la retención de todos los componentes anatómicos de granos y plantas procesados por extrusión), respecto al proceso tradicional de nixtamalización. Es por ello por lo que, en la presente investigación se desarrolló una mezcla compuesta optimizada a base de harinas de maíz azul extrudido (HMAE), vainas de mezquite fermentado-extrudido (HVMFE) y jamaica (HJ) adecuada para elaborar tortillas funcionales, las cuales tienen el potencial para impactar de manera positiva en el estado nutricional y de salud en general de la población mexicana. Existen varios reportes acerca de la fortificación de tortillas de maíz con otras fuentes vegetales para mejorar su valor nutricional y nutracéutico, principalmente potencial antioxidante, hipoglucemiante, antihipertensivo y anticancerígeno. Sin embargo, en la

literatura no existen reportes acerca de la elaboración de tortillas de maíz azul extrudido fortificadas con harina de semillas de mezquite fermentado-extrudido y harina de cálices de jamaica con el propósito de mejorar el valor nutricional y nutracéutico de las mismas.

V. HIPOTESIS

Tortillas funcionales producidas a partir de una mezcla compuesta optimizada a base de harina de maíz (*Zea mays* L) azul extrudido, harina de mezquite (*Prosopis laevigata*) fermentado-extrudido y harina de cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) presentan potencial antioxidante, valores altos de fitoquímicos y propiedades sensoriales similares a las de las tortillas de maíz azul extrudido sin fortificar con harinas de mezquite y cálices de jamaica.

VI. OBJETIVOS

A. OBJETIVO GENERAL.

Desarrollar una mezcla compuesta optimizada a base de harinas de maíz azul extrudido (HMAE), vainas de mezquite fermentado-extrudido (HVMFE) y cálices de jamaica (HCJ) adecuada para elaborar tortillas funcionales sensorialmente aceptables con valores altos de actividad antioxidante, contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y antocianinas totales.

B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

1. Optimizar la proporción de HMAE, HVMFE y HCJ de la mezcla compuesta empleada para preparar tortillas funcionales sensorialmente aceptables con valores altos de actividad antioxidante, contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y antocianinas totales.
2. Validar la mezcla compuesta optimizada con base en las variables de respuesta, evaluadas en las tortillas elaboradas a partir de dicha mezcla compuesta.
3. Realizar un estudio preliminar *in vivo* para evaluar el efecto preventivo del daño intestinal ocasionado por infección de *H. pylori* de tortillas funcionales elaboradas a partir de la mezcla compuesta optimizada en ratones hembra BALB/c.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental se realizó en el laboratorio de Bioprocesos y Alimentos Funcionales de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa, en el laboratorio de Fisicoquímica de Alimentos I del Área Académica de Química del Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería y el bioterio del Instituto de Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, durante el periodo comprendido entre febrero del año 2022 a julio del año 2023.

A. MATERIALES.

Las muestras de estudios constaron de maíz azul (*Zea mays* L) (cosecha 2019, del estado de Puebla), vainas de mezquite (*Prosopis laevigata*) fermentada (cosecha 2021, del estado de Hidalgo) y calices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) (cosecha 2019, del estado de Guerrero).

Los animales de estudio (ratones hembra BALB/c) fueron proporcionados por la dirección del bioterio del Instituto de Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo con el folio CICUAL-V-I/006/2023. Se obtuvieron 40 ratones hembra de 21 días de nacidos, con pesos entre 20 y 25 gramos.

B. MÉTODOS.

1. Diseño de experimentos.

Antes de realizar el trabajo experimental para la obtención de la mezcla compuesta optimizada a base de HMAE (harina de maíz azul extrudido), HVMFE (harina de vaina de mezquite fermentado-extrudido) y HCJ (harina de cálices de jamaica) se seleccionó el diseño experimental de Metodología de Superficie a emplear. Se utilizó un diseño experimental para mezclas L-Optimal (L-Óptimo). Se emplearon tres factores, los cuales fueron nivel de inclusión de las tres harinas mencionadas anteriormente; los niveles de inclusión para la HMAE fueron:

56.50, 61.23, 65.01, 64.60, 66.98, 72.27, 74.42, 75.80, 78.03 y 82.94%, para la HVMFE los niveles fueron: 1.54, 10.00, 12.06, 12.73, 18.02, 20.58, 21.12, 23.77, 25.73 y 30.00%, mientras que, para HCJ los niveles de inclusión fueron: 5.00, 8.83, 9.06, 9.67, 11.96, 13.50 y 15.00% (Cuadro 5). Las proporciones de los componentes (X1= HMAE, X2= HVMFE y X3= HCJ) se expresaron como fracciones de la mezcla, siendo siempre 1.0 (100%) la suma de las proporciones de los tres componentes. El diseño de experimentos se elaboró utilizando el programa Design Expert (versión 11).

2. Obtención de las harinas de maíz azul extrudido, vaina de mezquite fermentado extrudido y cálices de jamaica.

Para la producción de harina de maíz azul extruido (HMAE) se utilizaron condiciones de proceso optimizado propias de nuestro laboratorio (Milán-Carrillo et al., 2006). Lotes de 500 g de semillas de maíz azul se molieron en una licuadora doméstica hasta que las partículas obtenidas pasaran por una malla #40 (0.425 mm). Estas partículas se mezclaron con cal en una relación de 0.21 g de cal por cada 100 g de partículas mediante una mezcladora manual de aspas. Posteriormente, a esta mezcla se le adicionó agua para conseguir una humedad del 28% (p/p). Todas las muestras húmedas envasaron en bolsas de plástico con cierre hermético y se colocaron en refrigeración (4-8 °C) durante un periodo de 12 h para asegurar el equilibrio de la humedad en toda la muestra. Previo a que la muestra se alimentara al extrusor, esta se dejó a temperatura ambiente (25 °C) por 1 h.

Para la obtención de la harina de vaina de mezquite fermentado-extrudido (HVMFE), previo a la extrusión las vainas de mezquite fueron fermentadas. Para ello un lote de 1 kg de vainas de mezquite secas se molieron en un molino de martillos de laboratorio (Perten, modelo 3100) hasta que las partículas obtenidas pasaran por una malla #60 (0.250 mm); las fibras que no pasaron la malla #60 no fueron utilizadas. La harina integral obtenida se dispersó en dos

Cuadro 2. Diseño de experimentos L-Optimal de la metodología de superficie de respuesta para obtener diferentes mezclas compuestas a base de harina de maíz azul extrudido (HMAE), harina de vaina de mezquite fermentado extrudido (HVMFE) y harina de cálices de jamaica (HCJ). También, se muestran las variables de respuesta a estudiar para obtener la mezcla compuesta optimizada.

| Orden | | COMPONENTES DE LA MEZCLA COMPUESTA | | | VARIABLES DE RESPUESTA | | | | |
|-------|-----|------------------------------------|--------------|------------|---------------------------|----------------------|------------------------|-------------------------|--|
| Std | Run | X1: HMAE | X2: HVMFE | X3: HCJ | Actividad antioxidante | Fenólicos totales | Flavonoides totales | Antocianinas totales | Acceptabilidad global de la tortilla |
| 1 | 16 | 0.8294 | 0.1206 | 0.0500 | | | | | |
| 2 | 2 | 0.8294 | 0.1206 | 0.0500 | | | | | |
| 3 | 3 | 0.7442 | 0.2058 | 0.0500 | | | | | |
| 4 | 1 | 0.6501 | 0.2999 | 0.0500 | | | | | |
| 5 | 7 | 0.7580 | 0.0154 | 0.0883 | | | | | |
| 6 | 10 | 0.6982 | 0.2112 | 0.0906 | | | | | |
| 7 | 9 | 0.6982 | 0.2112 | 0.0906 | | | | | |
| 8 | 8 | 0.6982 | 0.2112 | 0.0906 | | | | | |
| 9 | 12 | 0.6460 | 0.2573 | 0.0967 | | | | | |
| 10 | 11 | 0.7803 | 0.1000 | 0.1196 | | | | | |
| 11 | 14 | 0.7803 | 0.1000 | 0.1196 | | | | | |
| 12 | 15 | 0.5650 | 0.3000 | 0.1350 | | | | | |
| 13 | 5 | 0.5650 | 0.3000 | 0.1350 | | | | | |
| 14 | 6 | 0.7227 | 0.1273 | 0.1500 | | | | | |
| 15 | 4 | 0.6123 | 0.2377 | 0.1500 | | | | | |
| 16 | 13 | 0.6698 | 0.1802 | 0.1500 | | | | | |

litros de agua, y la mezcla se pasteurizó. Posteriormente, la muestra estéril fue inoculada con la levadura *Saccharomyces cerevisiae* usando una concentración de 6×10^9 UFC/g. La fermentación se llevó a cabo a una temperatura de 27 °C durante un tiempo de 5 días, hasta que los azúcares se agotaron por completo. Posteriormente, la muestra fermentada fue secada en una estufa de convección forzada de aire (FELISA, 142ª, México) a una temperatura de 65 °C durante un tiempo de 4 h, para obtención de la muestra deshidratada de vainas de mezquite fermentado. Para la extrusión de esta muestra deshidratada de vainas de mezquite fermentado se siguieron las condiciones de Díaz-Batalla y col. (2018), con modificaciones. Lotes de 500 g de la muestra deshidratada de vainas de mezquite fermentado se colocaron en una licuadora doméstica hasta que las partículas obtenidas pasaran por una malla #40 (0.425 mm). La harina obtenida se mezcló con agua para conseguir un contenido de humedad del 16% (p/p). Todas las muestras húmedas envasaron en bolsas de plástico con cierre hermético y se colocaron en refrigeración (4-8 °C) durante un periodo de 12 h para asegurar el equilibrio de la humedad en toda la muestra. Previo a que la muestra se alimentara al extrusor, esta se dejó a temperatura ambiente (25 °C) por 1 h.

El proceso de extrusión se desarrolló en un extrusor de laboratorio de tornillo simple (un solo tornillo) Modelo 20 DN (CW Brabender Instruments, Inc, NJ, EUA). Las condiciones óptimas de operación del extrusor (temperatura de extrusión, TE y velocidad del tornillo, VT) fueron para el maíz azul, TE=85 °C y VT=240 rpm (Milán-Carrillo y col., 2006); y para las vainas de mezquite fermentado, TE=150 °C y VT=170 rpm (Díaz-Batalla y col., 2018); durante la extrusión del mezquite fermentado la temperatura del barril fue de 110, 130 y 150 °C para las zonas de calentamiento 1, 2 y 3, respectivamente, mientras que en el caso del maíz azul la temperatura de barril de las tres zonas de calentamiento fue la misma (85°C). Los pellets extrudidos se dejaron enfriar y equilibrar en condiciones ambientales (25 °C); posteriormente,

se molieron para pasar por una malla #80 (0.180 mm) y las harinas obtenidas se envasaron en bolsas de plástico con cierre hermético. Las harinas extruidas de maíz azul y de mezquite fermentado se almacenaron a 4-8 °C.

Para la obtención de la harina de cálices de jamaica (HCJ), dichos cálices fueron deshidratados (65°C, 4 h). Lotes de 500 g de cálices de jamaica deshidratados se colocaron en una licuadora doméstica para obtener sémola la cual se pasó por una malla de cribado US80 (0.180 mm). Todos los lotes se envasaron y se almacenaron a 4-8 °C hasta su uso.

3. Obtención de las tortillas con las mezclas compuestas de harinas.

Para la obtención de las tortillas se utilizaron lotes de 500g de cada una de las mezclas compuestas a base de HMAE, HVMFE y HCJ mostradas en el Cuadro 5, en las proporciones indicadas en el diseño de experimentos. A las tortillas obtenidas con cada uno de los tratamientos (diferentes mezclas compuestas; Cuadro 5) se les evaluaron las variables de respuesta: aceptación global de las tortillas (prueba sensorial), actividad antioxidante, compuestos fenólicos totales, flavonoides y antocianinas totales (pruebas nutracéuticas).

a. Amasado y moldeado.

La masa se obtuvo para cada una de las mezclas compuestas a base de HMAE, HVMFE y HCJ (mostradas en el Cuadro 5), mezclando cada una de estas con agua a 60 °C hasta que se obtuvo una consistencia adecuada. Posteriormente, la masa fue extendida en una capa delgada, que fue recortada o forzada dentro de una configuración circular. El espesor del extendido determinó el peso del producto final. La tortilla de mesa por lo general tuvo un diámetro de 15cm y un peso de 28 g a 30 g. El moldeado inició cuando la masa fue puesta entre un par de rodillos planos o prensa.

b. Cocimiento.

Las tortillas fueron cocidas a temperaturas que variaron entre 400°C y 450°C en planchas de calentamiento durante 40 y 60s.

4. Evaluación de las variables de respuesta.

a. Evaluación sensorial: aceptabilidad global de tortillas (AGT).

Esta prueba permitió a los panelistas manifestar su grado de aceptación por el producto (tortillas). Para la evaluación sensorial se seleccionó un panel de 30 jueces no entrenados de ambos sexos (18-35 años) quienes eran consumidores habituales de tortillas. La evaluación y selección de los panelistas se realizó considerando el interés de los participantes, su sensibilidad para detectar textura, sabor, color y aroma, así como su capacidad para comprender los procedimientos del estudio. Los evaluadores fueron ubicados en compartimentos individuales con temperatura (25°C) y humedad relativa (50-60%) controladas. Las muestras de tortillas, precalentadas a 45 °C para su degustación, fueron presentadas a los panelistas como trozos cuadrados de tortilla en platos marcados con el número de tratamiento. Los jueces registraron sus evaluaciones en una planilla para cada muestra de tortillas, evaluando los atributos de sabor, aroma, color, textura y aceptación general. Para ello, utilizaron una escala LAM (labeled affective magnitude), una escala bidireccional de 100 mm con descripciones verbales que varían desde -100 (máximo disgusto imaginable) hasta +100 (máximo agrado imaginable), con el punto central en cero (ni me gusta ni me disgusta). Posteriormente, estos valores se transformaron a una escala de 0 a 100 [0=máximo disgusto imaginable; 100=máximo agrado imaginable, con 50=ni me gusta ni me disgusta] (Cardello et al., 2004). Esta transformación permitió analizar las respuestas de aceptabilidad de las muestras de tortillas mediante regresión.

Finalmente, las tortillas restantes se secaron y molieron para que pasaran por una malla #80 (0.180 mm) y después se envasaron en bolsas de plástico con cierre hermético y se almacenaron en refrigeración a 4-8°C, para posteriormente determinar las variables de respuesta nutraceuticas (actividad antioxidante, compuestos fenólicos totales, flavonoides y antocianinas totales).

b. Evaluación de las variables nutraceuticas.

1) Obtención de extractos de compuestos fenólicos libres y ligados.

Los compuestos fenólicos libres se extrajeron siguiendo el método descrito por Dewanto y col (2002). El extracto de fenólicos libres se obtuvo a partir de medio gramo de muestra con diez mililitros de etanol concentrado (80%, v/v), aplicando agitación (25 rpm / 10 min) en un homogeneizador rotatorio (OVAN noria R, EUA 2010). Posteriormente, las muestras se centrifugaron a 5,000xg por 10 min, usando temperatura de 10 °C. La extracción de fenólicos libres se realizó dos veces a la misma muestra. Después, los sobrenadantes de las dos extracciones se decantaron y se concentraron a 45°C usando equipo a presión baja (Apud Vac Concentrator, Thermo Elector Corporation). Posteriormente, el concentrado se sometió a sequedad en estufa de convección forzada de aire (FELISA, 142ª, México) a 45°C y se almacenó en congelador a -20°C hasta su posterior utilización para determinación de variables nutraceuticas [actividad antioxidante (AAox), compuestos fenólicos (CF) y flavonoides (F)] correspondientes a la fracción de fitoquímicos libres. El material precipitado de las centrifugaciones se usó para la obtención de los extractos fenólicos ligados. La extracción de esta fracción ligada se hizo siguiendo el método descrito por Adom y Liu (2002), con modificaciones ligeras hechas por Mora-Rochín y col. (2010). Al material precipitado se le eliminó la grasa usando solvente hexano (diez mililitros), agitación con vortex durante treinta

segundos, posterior agitación continua durante diez minutos en homogeneizador rotatorio, centrifugación a 5,000xg por 10 min manteniendo temperatura de 10°C y final decantación para retiro del hexano saturado de grasa. La muestra desgrasada fue hidrolizada con hidróxido de sodio (concentración dos Molar, diez mililitros) en baño María a temperatura de 95°C por treinta minutos, seguido de agitación a temperatura ambiental (25°C) por un tiempo de una hora. Después, la muestra hidrolizada fue neutralizada mediante el uso de dos mililitros de ácido clorhídrico concentrado y agitación en vortex durante treinta segundos. Posteriormente, se hicieron las extracciones de los fenólicos ligados con acetato de etilo, las cuales se realizaron cuatro veces a la misma muestra. Al final, los sobrenadantes de las cuatro extracciones con acetato de etilo se decantaron y se concentraron a 45°C usando equipo a presión baja (Apud Vac Concentrator, Thermo Elector Corporation). Después, el concentrado se sometió a sequedad en estufa de convección forzada de aire (FELISA, 142ª, México) a 45°C y se almacenó en congelador a -20°C hasta su posterior utilización para determinación de variables nutracéuticas [actividad antioxidante (AAox), compuestos fenólicos (CF) y flavonoides (F)] correspondientes a la fracción de fitoquímicos ligados. Previo a su uso, los compuestos extraídos (libres y ligados) se reconstituyeron con metanol hasta alcanzar un volumen de 2 mL. Para el cálculo de AAox total, CF totales (CFT) y F totales (FT), los resultados correspondientes a las fracciones libres y ligadas fueron sumadas.

2) Actividad antioxidante (AAox).

La AAox hidrofílica de los extractos de las fracciones de fitoquímicos libres y ligados, obtenidos de las harinas, se determinó mediante la metodología ABTS. Este ensayo de decoloración descrito por Re y col. (1999) evalúa la capacidad captadora del catión radical ABTS. El método está basado en la reducción del radical ABTS (ABTS**) por los compuestos antioxidantes presentes en los extractos. Primero, se preparó la solución del radical ABTS, para

lo cual se disolvieron 7 mM de ABTS (ácido 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)) en agua destilada. A esta solución se le añadió persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$) a una concentración final de 2.45 mM. La mezcla se dejó reposar en la oscuridad durante 12 a 16 horas a temperatura ambiente, lo que permitió la formación completa del radical ABTS^{**}. Antes de usarlo en el ensayo, el radical se diluyó con agua destilada (45 mL de agua destilada + 500 μ L de la solución ABTS) hasta alcanzar una absorbancia de 0.700 ± 0.020 a 734 nm, para garantizar que la solución esté lista para la evaluación de la actividad antioxidante. Posteriormente, se llevó a cabo la prueba de inhibición de la decoloración de la reacción por los extractos debido a su capacidad captadora del catión radical ABTS. Para ello, primero se mezclaron veinte microlitros del blanco (sin extracto) con 1980 μ L de la solución de ABTS^{**}, se homogeneizaron suavemente y se leyó su absorbancia en un espectrofotómetro (UV-VIS Genesys 10 UV Thermo Electron Corporation, Madison, WI, EUA). Posteriormente, en otros tubos de reacción se colocaron veinte microlitros de cada muestra (extracto) y 1980 μ L del radical, con un tiempo de separación entre muestras de 30 s. La lectura de la absorbancia de las muestras se realizó a los 6 min de reacción. Las mediciones se hicieron por cuadruplicado. La AAox, medida como la capacidad atrapadora de radicales libres ABTS de las muestras, se expresó como micromoles (μ mol) equivalentes de Trolox (ET)/100 gramos de muestra, en base seca (bs).

3) Compuestos fenólicos totales

El contenido de compuestos fenólicos totales (extracto de la fracción libre + extracto de la fracción ligada) se determinó usando el ensayo colorimétrico de Folin-Ciocalteu (Singleton y col., 1999). Este método se basa en la capacidad de los compuestos fenólicos para reducir el reactivo de Folin-Ciocalteu, que contiene ácido fosfomolibdico y ácido fosfotúngstico (obtenidos por la mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico), provocando un cambio de color (de amarillo a azul) que se puede medir

espectrofotométricamente; la reacción se lleva a cabo en medio básico. La reducción de los ácidos produce un complejo de molibdeno y tungsteno de color azul. La intensidad de este color es proporcional a la cantidad de compuestos fenólicos presentes en la muestra. Para el desarrollo de la técnica, en viales de reacción de dos mililitros se mezclaron 20 μL de extracto (por cuadruplicado), con 1.2 mL de agua destilada y 100 μL del reactivo Folin-Ciocalteu y la mezcla se homogenizó y se dejó reposar un tiempo de 8 min. Posteriormente, transcurrido el tiempo de 8 min, se adicionaron 300 μL de carbonato de sodio (NaCO_3) al 7% y se agregarán 380 μL de agua destilada para completar el volumen de reacción final de 2 mL, el cual se dejó en reposo un tiempo de 90 min en la oscuridad. Pasado el tiempo de reacción (90 min), se midió la absorbancia a una longitud de onda de 765 nm en un espectrofotómetro (UV-Vis Genesys 10 UV Thermo Electron Corporation, Madison, WI, EUA). La concentración de compuestos fenólicos totales se determinó comparando la absorbancia de la muestra con una curva estándar, utilizando el compuesto fenólico ácido gálico en diferentes concentraciones, en la reacción descrita anteriormente, en vez de los extractos de compuestos fenólicos. Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de ácido gálico (EAG) por cada 100 g de muestra seca. El contenido de CFT se calculó a partir de la suma de las concentraciones de compuestos fenólicos obtenidos en los extractos de fitoquímicos de la fracciones libres y ligadas.

4) Flavonoides totales.

Para la determinación de flavonoides totales (libres + ligados) en los extractos se utilizó el método colorimétrico descrito por Xu y Chang (2007). El método para la determinación de flavonoides totales es un procedimiento colorimétrico utilizado para cuantificar el contenido total de flavonoides en muestras vegetales, alimentos o bebidas. Los flavonoides son un grupo importante de compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes. Este método se basa en la formación de un complejo colorido (amarillo o naranja, o bien rosa en caso de reaccionar en

medio adicionado con NaOH) que se puede medir espectrofotométricamente; la reacción se lleva a cabo en medio alcalino. En este método, el complejo formado entre los flavonoides y el cloruro de aluminio produce una coloración cuya intensidad es proporcional a la cantidad de flavonoides presentes en la muestra. Para el desarrollo del ensayo, se mezclaron 25 μL de extracto con 125 μL de agua destilada en una microplaca de reacción de 96 pocillos de 0.25 mL de volumen, seguido de la adición de 7.5 μL de NaNO_2 al 5%, y la reacción se dejó reposar la mezcla 6 min, después se le agregaron 15 μL de $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ al 10%, después de 5 min se le adicionó 50 μL de NaOH 1M. La mezcla fue llevada hasta un volumen de 0.25 mL con agua destilada. Se determinó la absorbancia contra un blanco a una longitud de onda de 510 nm usando un espectrofotómetro (Synergy TM HT Multidetecion, Biotek, Inc., VT). La concentración de flavonoides se determinó comparando la absorbancia de la muestra con una curva estándar, utilizando catequina en diferentes concentraciones, en la reacción descrita anteriormente, en vez de los extractos de compuestos fenólicos. Los valores se expresaron en miligramos equivalentes de catequina (ECA) por cada 100 g de muestra seca. La concentración de FT se calculó a partir de la suma de los contenidos de flavonoides obtenidos en los extractos de fitoquímicos de la fracciones libres y ligadas.

5) Contenido de antocianinas totales (CAT).

La concentración de antocianinas totales (CAT) se evaluó acorde a la metodología propuesta por Abdel-Aal y Hucl (1999). El método para la determinación de antocianinas totales es una técnica espectrofotométrica utilizada para cuantificar el contenido total de antocianinas en muestras de alimentos, plantas o bebidas. Las antocianinas son pigmentos flavonoides responsables de los colores rojo, morado y azul en muchas frutas, verduras, granos de cereales y leguminosas, y tienen propiedades antioxidantes. El método propuesto por Abdel-Aal y Hucl

(1999) para la determinación de antocianinas totales es una modificación del método espectrofotométrico convencional. Este enfoque se utiliza específicamente para cuantificar las antocianinas en granos pigmentados, como el maíz azul a púrpura, donde las concentraciones de antocianinas son más bajas que en frutas o verduras. La metodología tiene en cuenta la extracción, separación y cuantificación de las antocianinas presentes en las muestras. Para el desarrollo del método, primero se extrajeron las antocianinas. Para ello, las antocianinas se extrajeron de medio gramo de la muestra molida (harina de tortillas) utilizando diez mililitros de una solución acidificada de metanol (concentración 95%) con ácido clorhídrico (HCl) al 1% (1 N), en una relación 85:15% (v/v), respectivamente; la extracción se realizó en un tubo de centrifuga de 30 mL. La acidificación es crucial para estabilizar las antocianinas durante el proceso de extracción. Al tubo con la muestra se le inyectó nitrógeno gaseoso para eliminar el O₂. La mezcla se agitó vigorosamente durante treinta minutos para garantizar la completa liberación de las antocianinas de la matriz de la muestra. Posteriormente, la muestra se centrifugó (Sorvall RCSC, Sorvall Instruments, Dupont, Wilmington, DE, EUA) a 3000xg durante 10 min a una temperatura de 4 °C para eliminar los sólidos y obtener un extracto de antocianinas limpio. El sobrenadante fue recolectado y la absorbancia del extracto se midió a longitudes de onda de 535 nm (máximo de absorción para las antocianinas en soluciones ácidas) y 700 nm (corrección a 700 nm para compensar la turbidez u otras posibles interferencias ópticas) en un espectrofotómetro (UV-vis Genesys 10 UV Thermo Electron Corporation, Madison, WI, EUA). La concentración de antocianinas totales se calculó utilizando el coeficiente de extinción molar (ϵ) de la cianidina-3-glucósido (el tipo de antocianina más común), así como su masa molar (MM). La concentración se expresó como miligramos de equivalentes de cianidina-3-glucósido (EC3G) por 100 gramos de muestra seca. Se empleó la siguiente ecuación para determinar el contenido de antocianinas totales (CAT):

$$\text{CAT} = [(A_{535\text{nm}} - A_{700\text{nm}}) / (\epsilon)] \times [(\text{Vol total del extracto, L}) \times (\text{MM})] \times [1/(\text{ruta óptica, cm})] \times [1/(\text{Peso de la muestra seca, g})].$$

Donde:

A = Absorbancia

$\epsilon = 25,965/\text{cm}/\text{M}$

MM = 449.2 g/mol

5. Análisis de regresión y varianza.

Se aplicó regresión múltiple de mínimos cuadrados de la MSR para mezclas para ajustar modelos de regresión adecuados y reproducibles. El método de regresión múltiple de mínimos cuadrados para modelos de mezclas es una técnica estadística utilizada para modelar y analizar sistemas en los que la respuesta o variable dependiente (Y) está influenciada por una combinación de variables independientes (X1, X2 y X3) que representan las proporciones de los componentes de una mezcla (Figura 3). Este método es común en estudios de optimización de formulaciones y experimentos con mezclas en química, biología, ingeniería de alimentos, y otros campos. En nuestro estudio las variables independientes fueron: X1= HMAE, X2= HVMFE y X3= HCJ (donde X1, X2 y X3 fueron las fracciones de las harinas HMAE, HVMFE y HCJ, respectivamente) y las variables dependientes fueron: Y1 = AAox, Y2 = CFT, Y3 = FT, Y4 = CAT, Y5 = AGT. En la Figura 3, β_1 , β_2 , β_3 , β_{12} , β_{13} , β_{23} , β_{123} representan los coeficientes de los efectos lineal y de interacción doble y triple, respectivamente, y son los parámetros estimados durante la regresión por mínimos cuadrados. Para cada respuesta estudiada se ajustó un polinomio de primero o segundo grado a partir de los datos experimentales de AAox, CFT, FT, CAT y AGT de las diferentes tortillas obtenidas con cada una de las mezclas compuestas de harinas (HMAE, HVMFE, HCJ) mostradas en el Cuadro 5.

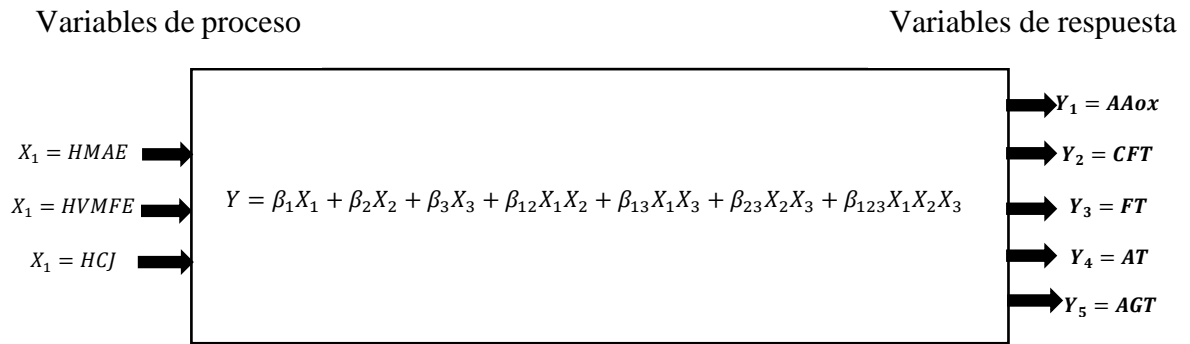


Figura 3. Representación gráfica de los modelos de regresión de segundo orden para mezclas compuestas.

Posteriormente, se evaluó la calidad del ajuste de los modelos mediante varias métricas estadísticas, como el coeficiente de determinación (R^2), coeficiente de determinación ajustado (R^2_{ajustado}), coeficiente de determinación predicho (R^2_{predicho}), el error estándar de los residuos, coeficiente de variación (CV), pruebas de significancia para los coeficientes y el modelo completo, así como la significancia de la falta de ajuste del modelo de regresión y análisis de residuos. Si el modelo ajustado no es satisfactorio, se puede intentar mejorar el modelo incluyendo términos adicionales, como interacciones de mayor grado o términos cúbicos. Los modelos de regresión generados se emplearon para representar gráficamente el comportamiento de las variables de respuesta en función de las proporciones de la mezcla compuesta.

6. Optimización

La optimización consistió en encontrar los valores óptimos de X1, X2 y X3, mediante el método numérico de deseabilidad global (D), donde las variables de respuesta AAox, CFT, FT, AT, AGT alcanzaran los valores más altos dentro de la región experimental. El método de optimización de deseabilidad es una técnica estadística utilizada para encontrar el mejor conjunto de condiciones experimentales que optimicen simultáneamente múltiples respuestas en un proceso o sistema. Se usa principalmente en ingeniería, manufactura, química, biotecnología, y desarrollo de productos, donde se deben equilibrar varias características o criterios de calidad. Para ello, primero se calculó los valores de deseabilidad individual para cada respuesta. Para cada respuesta o criterio a optimizar (en nuestro caso encontrar los valores más altos posibles de las variables de respuesta AAox, CFT, FT, AT, AGT, las cuales se definieron como criterios de calidad de las tortillas funcionales), se definió una función de deseabilidad individual d_i , que transformó la respuesta en una escala entre 0 y 1 mediante la ecuación mostrada en la Figura 4. Una deseabilidad de 0 significa que la respuesta es

$$d_i(x) = \begin{cases} 0 & \text{if } \hat{Y}_i(x) \leq Y_{i^*} \\ \frac{\hat{Y}_i(x) - Y_{i^*}}{Y_i^* - Y_{i^*}} & \text{if } Y_{i^*} \leq \hat{Y}_i(x) \leq Y_i^* \\ 1 & \text{if } \hat{Y}_i(x) \geq Y_i^* \end{cases}$$

Figura 4. Ecuación de transformación utilizada para calcular los valores de deseabilidad individual para cada respuesta. Donde: $d_i(x)$ = Valor de la deseabilidad de la i-esima variable de respuesta, $\hat{Y}_i(x)$ = Variable de respuesta estimada, Y_i^* = Máximo valor aceptable de la i-esima variable de respuesta, Y_{i^*} = Mínimo valor aceptable de la i-esima variable de respuesta.

completamente inaceptable, mientras que una deseabilidad de 1 indica que la respuesta es óptima. Para cada respuesta, se definieron los valores deseados, límites inferiores y superiores, y la importancia relativa (ponderación) de cada respuesta en el sistema global. Estas definiciones son fundamentales para la construcción de las funciones de deseabilidad. En nuestro caso se tomaron los valores experimentales mínimos y máximos de cada variable de respuesta como los valores deseados, y a cada respuesta se le dio el mismo peso e importancia.

Posteriormente, se calculó la deseabilidad global (D) combinando las deseabilidades individuales mediante una media geométrica, lo que refleja un equilibrio entre las respuestas. La función de deseabilidad global también varía entre 0 y 1, donde 1 indica que todas las respuestas alcanzan su valor óptimo. La fórmula de la deseabilidad global para 5 respuestas es la siguiente: $[D = (d_1 \times d_2 \times d_3 \times d_4 \times d_5)^{1/5}]$ (Bacio-Parra, 2007). Esta función D representa una opción lógica, porque si alguna d_i es igual a 0, también D es igual a 0, indicando que el producto obtenido (en nuestro caso la tortilla estudiada) es inaceptable. Para la optimización se utilizó un algoritmo de optimización (optimización no lineal) para encontrar los valores de las variables del proceso que maximizaron la deseabilidad global D . Estos valores representan las mejores condiciones experimentales [porcentaje de cada tipo de harina (HMAE, HVMFE y HCJ) para la obtención de la mezcla compuesta con valores más altos posible de AAox, CFT, FT, AT, AGT] que logran un equilibrio óptimo entre todas las respuestas. Adicionalmente, se obtuvieron gráficos para D para analizar el comportamiento de esta respuesta en función de las proporciones de las tres harinas (HMAE, HVMFE y HCJ). Valores para D entre 0.6 y 0.8 son adecuados para sistemas alimenticios, siendo el valor ideal óptimo $D=1$. Para este estudio de regresión y optimización se empleó el Programa Design Expert version 11 (Design Expert, 2018; Stat-Ease, Inc., 1300 Godward Street Northeast, Suite 6400, Minneapolis, MN 55413, EUA).

7. Validación de condiciones óptimas.

Una vez identificadas las condiciones óptimas, se validaron experimentalmente para verificar que se lograron los resultados previstos. Para validar las condiciones óptimas, se elaboraron 3 lotes de tortillas (3 réplicas) con las condiciones optimizadas; a estas tortillas se les evaluó experimentalmente por triplicado AAox, CFT, FT, AT y AGT y los resultados se contrastaron con los valores teóricos predichos con los polinomios de regresión obtenidos. Adicionalmente, se verificó que estos valores experimentales cayeran dentro de los intervalos de confianza teóricos para cada respuesta, los cuales se construyeron a partir de la zona de optimización utilizando un nivel de confianza del 95%.

8. Efecto preventivo del daño intestinal ocasionado por infección de *H. pylori* de tortillas funcionales (estudio preliminar *in vivo*)

a. Clasificación de modelos de estudio.

Se formaron cinco de grupos con ocho ratones hembra BALB/c en cada uno de ellos, en donde cada grupo recibió una dieta diferente (Cuadro 6), siendo el grupo uno el que recibió el alimento a base de harina de maíz azul extrudido (HMAE), el grupo dos el alimento a base de HMAE adicionado con harina de vainas de mezquite fermentado-extrudido (HVMFE) en una proporción 80:20 (% p/p), respectivamente, el grupo tres recibió una dieta a base de HMAE adicionada con HVMFE y harina de calices de jamaica (HCJ) en proporción optimizada, mientras que los grupos cuatro y cinco fueron alimentados con una dieta rica en caseína, pero el grupo cinco no fue inoculado con la bacteria *H. Pylori*. Las dietas fueron elaboradas siguiendo los requerimientos de la dieta AIN-93G recomendada para la fase de crecimiento de roedores.

Cuadro 6. Formulación de las dietas empleadas para alimentar ratones en fase de crecimiento.

| Ingrediente (g/100 g, bs) | Dieta a base de | | | |
|--|--------------------------------------|--|--|----------------------|
| | Tortillas de HMAE ¹ | Tortillas de HMAE+HVMFE ¹ | Tortillas de HMAE+HVMFE+HCJ ^{1,2} | Caseína ³ |
| <i>Harina de tortilla o caseína</i> | 88.5 | 88.5 | 88.5 | 9.1 |
| <i>Aceite de maíz</i> | 4.1 | 4.2 | 4.2 | 6.8 |
| <i>Proteína (L-Glutamina)</i> | 1.4 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Mezcla de minerales</i> | 2.0 | 1.8 | 1.5 | 3.3 |
| <i>Mezcla de vitaminas</i> | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| <i>Fibra (Celulosa)</i> | 2.9 | 2.8 | 1.1 | 4.9 |
| <i>Sacarosa</i> | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Almidón de maíz</i> | 0 | 1.7 | 3.6 | 68.3 |
| <i>Almidón de maíz dextrinizado (90-94 % tetrasacáridos)</i> | 0 | 0 | 0 | 6.6 |

¹HMAE= Harina de maíz azul extrudido, HVMFE =Harina de vainas de mezquite fermentado-extrudido, HCJ = Harina de cálices de jamaica. ²HMAE= 82.8%, HVMFE= 10%, HCJ= 7.2%. ³Caseína fue empleada para elaborar la dieta control.

b. Inoculación de los modelos de estudio.

El enfoque terapéutico implementado consistió en un régimen profiláctico que implicó la administración por treinta y siete días consecutivos las diferentes dietas a cada grupo. En el día treinta, treinta y dos y treinta cuatro, los ratones de los grupos uno, dos, tres y cuatro fueron infectados vía oral con *H. pylori* (10^8 UFC/mL), con ayuda de una cánula intragástrica calibre 20. Posterior a la infección los ratones se mantuvieron con la dieta correspondiente de cada grupo hasta el día treinta y siete, día en que finalizó el experimento.

c. Sacrificio de los modelos de estudio.

El método de eutanasia utilizado fue la punción cardíaca, una vez sacrificados los animales se diseccionaron a fin de recolectar los órganos de interés. Asimismo, los cadáveres fueron manejados por la ruta de RPMI.

9. Estudios histopatológicos.

Una vez que los órganos de interés fueron recolectados, se procedió a realizar los estudios histopatológicos. Las muestras de esófago, estómago, duodeno, yeyuno, íleon, ciego, colon, hígado y páncreas fueron procesadas mediante el método de inclusión en parafina (Prophet, 1995) utilizando un procesador automático de tejidos (Microm, modelo TP120) (Cuadro 7) y seccionadas en cortes de 6 μ m con un microtomo de rotación manual (Leica, modelo RM125RT). Luego, se realizaron tinciones utilizando el método de Hematoxilina y Eosina (H-E) (Cuadro 8) y las muestras se cubrieron con resina sintética y un cubreobjetos (Prophet, 1995). Para su observación y análisis, se empleó un microscopio compuesto de campo claro (Olympus, modelo BX41). Las imágenes representativas fueron capturadas digitalmente con una cámara Evolution VF (Microsystems) y procesadas utilizando el software ImagePro v. 6.0 (Microsystems) en una PC Vaio equipada con un procesador Pentium y 4 GB de RAM.

Cuadro 7. Procesamiento automatizado de muestras histológicas.

| | Paso | Reactivo | Tiempo de procesamiento (h) |
|----------------|-------------|----------------------------|------------------------------------|
| Lavado | 1 | Agua destilada | 1 |
| | 2 | Alcohol isopropílico 60 % | 1 |
| | 3 | Alcohol isopropílico 70 % | 1 |
| | 4 | Alcohol isopropílico 80 % | 1 |
| Deshidratación | 5 | Alcohol isopropílico 96 % | 1 |
| | 6 | Alcohol isopropílico 96 % | 2 |
| | 7 | Alcohol isopropílico 100 % | 1 |
| | 8 | Alcohol isopropílico 100 % | 2 |
| Aclaramiento | 9 | Xileno | 1 |
| | 10 | Xileno | 2 |
| Infiltración | 11 | Parafina | 1 |
| | 12 | Parafina | 2 |

Tomado y modificado de Prophet, 1995

Cuadro 8. Tinción hematoxilina y Eosina

| | Tinción H-E | Tiempo (min) | |
|--------|---|---------------------|--|
| Inicio | Xileno | 2 | |
| | Xileno | 2 | |
| | Alcohol isopropílico 100 % | 2 | |
| | Alcohol isopropílico 100 % | 2 | |
| | Alcohol isopropílico 95 % | 2 | |
| | Alcohol isopropílico 95 % | 2 | |
| | Alcohol isopropílico 80 % | 2 | |
| | Alcohol isopropílico 70 % | 2 | |
| | Agua destilada | 0.1 | |
| | Hematoxilina de Harris | 10 | |
| | Agua corriente | 2-5 | |
| | Alcohol ácido | 0.1 | |
| | Agua amoniacal | viraje a azul | |
| | Agua corriente | 10 | |
| | Alcohol isopropílico 70 % | 2 | |
| | Eosina-Floxina | 5 | |
| | Alcohol isopropílico 80 % | 2 | |
| | Alcohol isopropílico 95 % | 2 | |
| | Alcohol isopropílico 95 % | 2 | |
| | Alcohol isopropílico 100 % | 2 | |
| | Alcohol isopropílico 100 % | 2 | |
| | Xileno | 2 | |
| | Xileno | 2 | |
| | Montaje | Resina | |
| | Resultados: epitelio rosa intenso a violeta, conectivo rosa claro, muscular rosa intenso y nervioso rosa claro | | |

Tomado y modificado de Prophet, 1995.

VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. OBTENCIÓN DE LA MEZCLA COMPUESTA OPTIMIZADA A BASE DE HMAE, HVMFE Y HCJ ADECUADA PARA PREPARAR TORTILLAS FUNCIONALES SENSORIALMENTE ACEPTABLES CON VALORES ALTOS DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS, FLAVONOIDES Y ANTOCIANINAS TOTALES.

A continuación, se mostrarán los modelos matemáticos de regresión generados para cada variable de respuesta estudiada. Posteriormente, estos modelos se emplearon para estudiar el comportamiento de las variables de respuesta en función de los factores analizados (proporciones de las harinas empleadas en la mezcla compuesta). Asimismo, los modelos de regresión se usaron para generar valores teóricos de las variables de respuesta en área de experimentación de manera aleatoria y convertir dichos valores a valores de deseabilidad individual para cada respuesta. Luego, a partir de los valores de deseabilidad individual se calculó la deseabilidad global en cada punto aleatorio seleccionado de la región experimental. Finalmente, se seleccionó el valor de deseabilidad global con el valor máximo posible. La mezcla compuesta obtenida con esta deseabilidad máxima correspondió a la mezcla compuesta optimizada a base de HMAE, HVMFE y HCJ adecuada para preparar tortillas funcionales sensorialmente aceptables con valores altos de actividad antioxidante, contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y antocianinas totales.

1. Modelos de predicción.

En los Cuadros 5 y 9 se muestran las diferentes combinaciones de proporciones de cada tipo de harina utilizada (HMAE, HVMFE y HCJ) para el desarrollo de la mezcla compuesta de

Cuadro 9. Resultados experimentales de las variables de respuesta evaluadas a tortillas funcionales preparadas con diferentes niveles de inclusión de HMAE, HVMFE y HCJ.

| Orden | | Componentes de la mezcla | | | Variables de respuesta | | | | |
|-------|-----|--------------------------|---------------|---------------|------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Std | Run | X1: HMAE | X2: HVMFE | X3: HCJ | AAox | CFT | FT | AT | AGT |
| 1 | 16 | 0.8294 | 0.1206 | 0.0500 | 5860.5 | 334.9 | 37.91 | 9.22 | 57.5 |
| 2 | 2 | 0.8294 | 0.1206 | 0.0500 | 5715.51 | 347.5 | 38.75 | 8.99 | 56.11 |
| 3 | 3 | 0.7442 | 0.2058 | 0.0500 | 4355.76 | 334.2 | 39.73 | 6.60 | 55.85 |
| 4 | 1 | 0.6501 | 0.2999 | 0.0500 | 3595.32 | 318.9 | 25.62 | 4.56 | 47.96 |
| 5 | 7 | 0.7580 | 0.0154 | 0.0883 | 4997.6 | 365.7 | 38.25 | 11.47 | 51.36 |
| 6 | 10 | 0.6982 | 0.2112 | 0.0906 | 4214.06 | 337.1 | 30.83 | 9.41 | 52.06 |
| 7 | 9 | 0.6982 | 0.2112 | 0.0906 | 4454.57 | 366.5 | 25.65 | 9.91 | 53.45 |
| 8 | 8 | 0.6982 | 0.2112 | 0.0906 | 4966.83 | 358.6 | 29.04 | 10.07 | 47.9 |
| 9 | 12 | 0.6460 | 0.2573 | 0.0967 | 3720.65 | 347.5 | 23.14 | 9.30 | 48.33 |
| 10 | 11 | 0.7803 | 0.1000 | 0.1196 | 5548.03 | 377.9 | 37.38 | 14.84 | 57.6 |
| 11 | 14 | 0.7803 | 0.1000 | 0.1196 | 6076.19 | 389.4 | 37.22 | 15.72 | 53.98 |
| 12 | 15 | 0.5650 | 0.3000 | 0.1350 | 3696.45 | 376.6 | 17.29 | 9.60 | 41.11 |
| 13 | 5 | 0.5650 | 0.3000 | 0.1350 | 3044.85 | 366.2 | 20.38 | 8.45 | 43.65 |
| 14 | 6 | 0.7227 | 0.1273 | 0.1500 | 5869.23 | 384.9 | 38.76 | 15.84 | 50.56 |
| 15 | 4 | 0.6123 | 0.2377 | 0.1500 | 4135.18 | 379.4 | 23.11 | 13.81 | 44.56 |
| 16 | 13 | 0.6698 | 0.1802 | 0.1500 | 4273.87 | 377.0 | 22.93 | 12.09 | 45.15 |

¹Diseño experimental L-Óptimo con tres factores; 16 experimentos (mezclas). HMAE = harina de maíz azul extruido, HVMFE = harina de vainas de mezquite fermentadas-extruidas, HCJ = harina de cálices de jamaica, AAox = actividad antioxidante ($\mu\text{mol eq. Trolox /100 g}$), CFT = compuestos fenólicos totales ($\text{mg ácido gálico /100 g}$), FT = flavonoides totales ($\text{mg catequina eq. /100 g}$), AT = antocianinas totales ($\text{mg eq. cianidina-3-glucósido /100 g}$), AGT = aceptabilidad global de tortillas. *Los valores en negrita de las variables de proceso y respuesta corresponden a los valores mínimos y máximos utilizados y obtenidos, respectivamente.

HMAE, HVMFE y HCJ. A partir de estas mezclas compuestas se elaboraron tortillas funcionales a las cuales se les evaluaron las variables de respuesta seleccionadas en el diseño experimental (Cuadros 5 y 9), además que en el Cuadro 9 podemos observar los resultados experimentales de dichas variables de respuesta [actividad antioxidante (**AAox**), compuestos fenólicos totales (**CFT**), flavonoides totales (**FT**), antocianinas totales (**AT**) y aceptabilidad global de la tortilla (**AGT**)] de las diferentes muestras de tortillas obtenidas con los 16 tratamientos indicados en el diseño de experimentos. A partir de los datos experimentales se realizó regresión lineal múltiple de mínimos cuadrados para obtener modelos de predicción para cada variable de respuesta estudiada y los cuales se muestran a continuación.

a. Actividad antioxidante (AAox).

En el Cuadro 9 se puede observar que los valores de **AAox** tuvieron valores en un rango de 3005 a 6076 μmol equivalentes de Trolox/100g, bs.

El análisis de varianza mostró un modelo lineal significativo ($p < 0.05$) de la proporción de HMAE, HVMFE y HCJ. El modelo de predicción para la AAox usando variables codificadas fue:

$$\mathbf{AAox} = \mathbf{5948*HMAE} + \mathbf{2168*HVMFE} + \mathbf{5461*HCJ}$$

Este modelo de predicción explicó el 90% de la variabilidad total ($p < 0.0001$) de los valores de AAox de las tortillas elaboradas a partir de las mezclas compuestas. El coeficiente de determinación R^2 ajustada del modelo fue de 0.8857 y la falta de ajuste fue no significativa (probabilidad igual a 0.7570). Además, la dispersión relativa de los puntos experimentales con respecto a los valores predichos con el modelo ($CV = 6.88\%$) fue menor al 10% (Cuadro 10). Estos valores indican que el modelo de predicción para la AAox de la mezcla compuesta fue adecuado y reproducible.

Cuadro 10. Coeficientes de regresión y análisis de varianza para los modelos de predicción de las variables de respuesta estudiadas en función de las variables de proceso.

| Parámetros | Variables de respuesta ¹ | | | | |
|----------------------------------|-------------------------------------|----------|----------|----------|----------|
| | AAox | CFT | FT | AT | AGT |
| Coeficientes de regresión lineal | | | | | |
| Lineales | | | | | |
| β_1 | 5948*** | 345*** | 37*** | 10*** | 59*** |
| β_2 | 2168*** | 314*** | 6*** | 1.0*** | 44*** |
| β_3 | 5461*** | 494*** | 48*** | 31*** | 37*** |
| Interacciones | | | | | |
| β_{12} | | | 54** | | |
| β_{13} | | | | | |
| β_{23} | | | | | |
| β_{123} | | | -309** | | |
| Valor <i>p</i> modelo | < 0.0001 | < 0.0001 | < 0.0001 | < 0.0001 | < 0.0001 |
| R^2 | 0.9009 | 0.8528 | 0.9083 | 0.9634 | 0.8612 |
| $R^2_{ajust.}$ | 0.8857 | 0.8301 | 0.8750 | 0.9577 | 0.8399 |
| R^2_{pred} | 0.8482 | 0.7910 | 0.8067 | 0.9405 | 0.8015 |
| Valor <i>p</i> falta de ajuste | 0.7570 | 0.9333 | 0.1341 | 0.2012 | 0.7254 |
| CV (%) | 6.88 | 2.41 | 9.12 | 6.27 | 4.10 |

¹ AAox = actividad antioxidante, CFT = compuestos fenólicos totales, FT = flavonoides totales, AT = antocianinas totales, AGT = aceptabilidad global de tortillas. NS = No significativo ($p > 0.10$), * Significativo a $p \leq 0.10$, ** Significativo a $p \leq 0.05$, *** Significativo a $p \leq 0.01$.

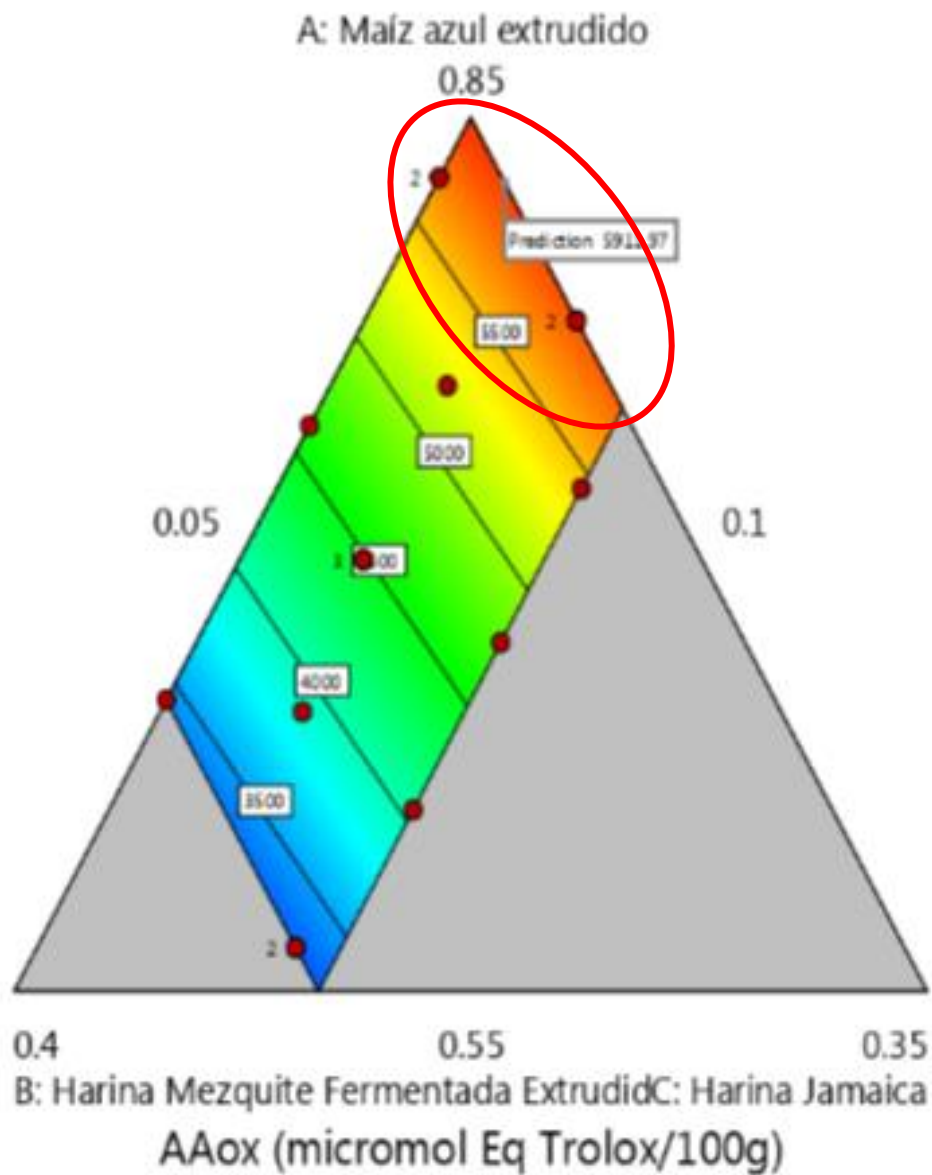


Figura 5. Gráfica triangular de contornos mostrando los valores de predicción de la variable de respuesta actividad antioxidante (AAox) en función de las proporciones de los componentes (X1, X2, X3) de la mezcla compuesta. X1 (A)= harina de maíz azul extrudido, X2 (B)= harina de vainas de mezquite fermentado-extrudido y X3 (C)= harina de cálices de jamaica.

A partir de este modelo de predicción se construyó una gráfica tridimensional, con forma de triángulo (Figura 5), en los vértices del triángulo se encuentran los componentes de la mezcla X1, X2 y X3 (X1= EBCF, X2= FEMPF y X3= HCF). En donde el componente X1 aumenta de abajo hacia arriba de 0.55 a 0.85, mientras que el componente X2 aumenta del lado derecho del triángulo hacia su vértice correspondiente de 0.1 a 0.4, en tanto que, el componente X3 aumenta del lado izquierdo del triángulo hacia su vértice correspondiente de 0.05 a 0.35.

En la Figura 5 se puede observar que los valores de AAox son más altos (valores deseables) cuando el contenido de harina de maíz extrudido (HMAE) y harina de cálices de jamaica (HCJ) son altos, mientras que el contenido de harina de vainas de mezquite fermentado-extrudido (HVMFE) es bajo. Esto puede deberse al mayor contenido de compuestos fenólicos de los ingredientes HMAE y HCJ que la HVMFE. En la literatura se han reportado una alta correlación entre la actividad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos. De acuerdo con la Figura 5 se puede observar que los valores teóricos (predichos con el modelo de predicción) más altos de AoxA estuvieron en el rango de 5526 a 5893 μmol equivalentes de Trolox/100g, bs.

b. Compuestos fenólicos totales (CFT).

En el Cuadro 9 se puede observar que los valores de CFT tuvieron valores en un rango de 318.9 a 389.4 mg equivalentes de ácido gálico/100g, bs.

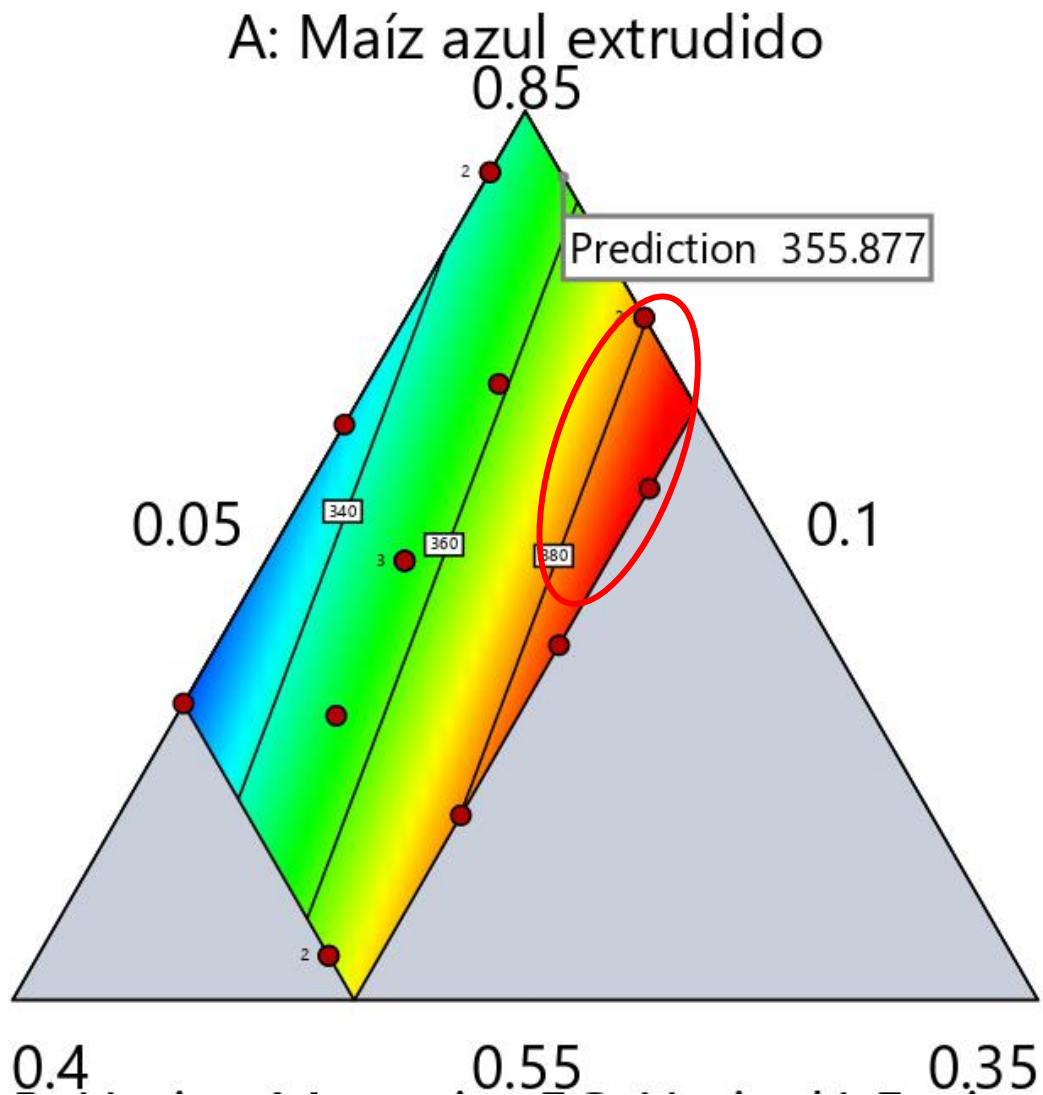
El análisis de varianza mostró un modelo lineal significativo ($p < 0.05$) de la proporción de HMAE, HVMFE y HCJ. El modelo de predicción para la AAox usando variables codificadas fue:

$$\text{CFT} = 345 \cdot \text{HMAE} + 314 \cdot \text{HVMFE} + 494 \cdot \text{HCJ}$$

Este modelo de predicción explico el 85.28% de la variabilidad total ($p < 0.0001$) de los valores de CFT de la mezcla compuesta optimizada. El coeficiente de determinación R^2 ajustada del modelo fue de 0.8301 y la falta de ajuste fue no significativa (probabilidad igual a 0.9333). Además, la dispersión relativa de los puntos experimentales con respecto a los valores predichos con el modelo (CV= 2.41 %) fue menor al 10 % (**Cuadro 10**). Estos valores indican que el modelo de predicción para CFT de la mezcla compuesta optimizada fue adecuado y reproducible.

A partir de este modelo de predicción se construyó una gráfica tridimensional con forma de triángulo (Figura 6), en los vértices del triángulo se encuentran los componentes de la mezcla HMAE, HVMFE y HCJ, correspondientes a X1, X2 y X3. Cabe mencionar que esta grafica tiene un comportamiento igual al mencionado para la gráfica mencionada anteriormente para la AoxA.

En la Figura 6 se puede observar que los valores de CFT son más altos (valores deseables) cuando el contenido de harina de maíz extrudido (HMAE) y harina de cálices de jamaica (HCJ) son altos, mientras que el contenido de harina de vainas de mezquite fermentado-extrudido (HVMFE) es bajo. Como se mencionó anteriormente, esto puede deberse al mayor contenido de compuestos fenólicos de los ingredientes HMAE y HCJ que la HVMFE. Estos valores de CFT más altos se encuentran en la misma zona donde se encuentran los valores más altos de AAox, confirmando la alta correlación entre CFT y AAox, como ha sido reportado previamente en la literatura. De acuerdo con la Figura 6 se puede observar que los valores teóricos más altos de CFT estuvieron en el rango de 380 a 394 mg equivalentes de ácido gálico/100g, bs.



B: Harina Mezquite Fermentada Extrudida
C: Harina Jamaica
Fenólicos totales (mg EAG/100g)

Figura 6. Gráfica triangular de contornos mostrando los valores de predicción de la variable de respuesta compuestos fenólicos totales (CFT) en función de las proporciones de los componentes (X1, X2, X3) de la mezcla compuesta. X1 (A)= harina de maíz azul extrudido, X2 (B)= harina de vainas de mezquite fermentado-extrudido y X3 (C)= harina de cálices de jamaica.

c. Flavonoides totales (FT).

En el Cuadro 9 se puede observar que los valores de FT tuvieron valores en un rango de 17.29 a 39.73 mg equivalentes de catequina/100g, bs.

El análisis de varianza mostró un modelo cúbico compuesto significativo ($p < 0.0001$) de la proporción de HMAE (A), HVMFE (B) y HCJ (C). Además de las interacciones doble “AB” y triple “-ABC” de estos factores. El modelo de predicción para FT usando variables codificadas fue:

$$\text{FT} = +37*\text{HMAE} + 6*\text{HVMFE} + 48*\text{HCJ} + 54*\text{HMAE}*\text{HVMFE} - 309*\text{HMAE}*\text{HVMFE}*\text{HCJ}$$

Este modelo de predicción explico el 90.83% de la variabilidad total ($p < 0.0001$) de los valores de FT de la mezcla compuesta optimizada. El coeficiente de determinación R^2 ajustada del modelo fue de 0.8750 y la falta de ajuste fue no significativa (probabilidad igual a 0.1341). Además, la dispersión relativa de los puntos experimentales con respecto a los valores predichos con el modelo ($CV = 9.12\%$) fue menor al 10% (**Cuadro 10**). Estos valores indican que el modelo de predicción para FT de la mezcla compuesta fue adecuado y reproducible.

A partir de este modelo de predicción se construyó una gráfica tridimensional, con forma de triángulo (Figura 7), en los vértices del triángulo, se encuentran los componentes de la mezcla x_1 , x_2 y x_3 . Cabe mencionar que esta grafica continua con el comportamiento de las gráficas anteriores.

En la Figure 7 se puede observar que los valores de FT son más altos (valores deseables) cuando el contenido de harina de maíz extrudido (HMAE) y harina de cálices de jamaica (HCJ) son altos, mientras que el contenido de harina de vainas de mezquite fermentado-extrudido (HVMFE) es de un nivel bajo a un nivel intermedio. Esto indica que

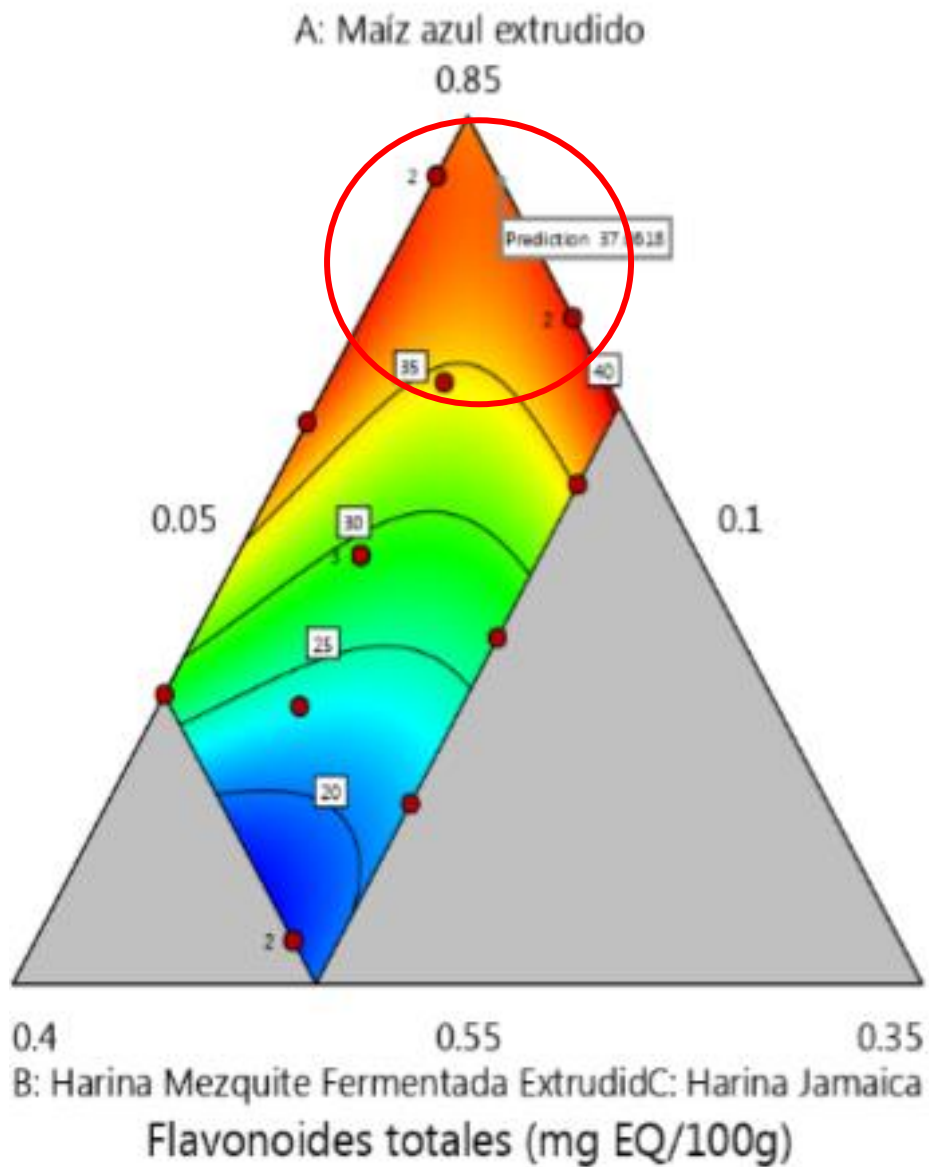


Figura 7. Gráfica triangular de contornos mostrando los valores de predicción de la variable de respuesta flavonoides totales (FT) en función de las proporciones de los componentes (X1, X2, X3) de la mezcla compuesta. X1 (A)= harina de maíz azul extrudido, X2 (B)= harina de vainas de mezquite fermentado-extrudido y X3 (C)= harina de cálices de jamaica.

la harina de vainas de mezquite fermentado-extrudido son una fuente importante de compuestos flavonoides. Asimismo, los resultados indican que las harinas HMAE y HCJ presentan contenidos altos de compuestos flavonoides. Esto puede deberse a que los compuestos flavonoides son parte de los compuestos fenólicos totales. Es por ello que, estos valores de FT más altos se encuentran en una zona cercana donde se encuentran los valores más altos de CFT y AAox. De acuerdo con la Figura 7 se puede observar que los valores teóricos más altos de FT estuvieron en el rango de 35 a 37 mg equivalentes de catequina/100g, bs.

d. Antocianinas totales (AT).

En el Cuadro 9 se puede observar que los valores de **AT** tuvieron valores en un rango de 4.56 a 15.84 mg equivalentes de cianidina 3-glucósido/100g, bs.

El análisis de varianza mostró un modelo lineal significativo ($p < 0.0001$) de la proporción de HMAE, HVMFE y HCJ. El modelo de predicción para la AT usando variables codificadas fue:

$$\mathbf{AT = 10*HMAE + 1*HVMFE + 31*HCJ}$$

Este modelo de predicción explico el 96.34% de la variabilidad total ($p < 0.0001$) de los valores de AT de la mezcla compuesta optimizada. El coeficiente de determinación R^2 ajustada del modelo fue de 0.9577 y la falta de ajuste fue no significativa (probabilidad igual a 0.2012). Además, la dispersión relativa de los puntos experimentales con respecto a los valores predichos con el modelo ($CV = 6.27\%$) fue menor al 10% (**Cuadro 10**). Estos valores indican que el modelo de predicción para AT de la mezcla compuesta fue adecuado y reproducible.

A partir de este modelo de predicción se construyó una gráfica tridimensional, con forma de triángulo (Figura 8), en los vértices del triángulo, se encuentran los componentes de la mezcla x_1 , x_2 y x_3 . En la Figura 8 se puede observar que los valores de AT son más altos (valores deseables) cuando el contenido de harina de maíz extrudido (HMAE) y harina de cálices de jamaica (HCJ) son altos, mientras que el contenido de harina de vainas de mezquite fermentado-extrudido (HVMFE) es bajo. Como se mencionó anteriormente, esto puede deberse al mayor contenido de antocianinas totales en los ingredientes HME y HCJ que la HVMFE. Estos valores de AT más altos se encuentran en la misma zona donde se encuentran los valores más altos de AAox y CFT, indicando una posible correlación entre CFT y AT, lo cual no ha sido reportado previamente en la literatura. De acuerdo con la Figura 8 se puede observar que los valores teóricos más altos de AT estuvieron en el rango de 14 a 17 mg equivalentes de cianidina 3-glucósido/100g, bs.

e. Aceptabilidad global de la tortilla (AGT).

En el **Cuadro 9** observamos que la **AGT** presentó valores con un mínimo y máximo de 43.65 y 57.6, respectivamente, estos valores se encontraron en la escala LAM entre me disgusta moderadamente (34.06) y me gusta moderadamente (68.12).

El análisis de varianza mostró un modelo lineal significativo de la proporción de HMAE, HVMFE y HCJ. El modelo de predicción para la AGT usando variables codificadas fue:

$$AT = 59 * HMAE + 44 * HVMFE + 37 * HCJ$$

Este modelo de predicción explico el 86.12% de la variabilidad total ($p < 0.0001$) de los valores de AGT de la mezcla compuesta optimizada. El coeficiente de determinación R^2 ajustada del modelo fue de 0.8399 y la falta de ajuste fue no significativa

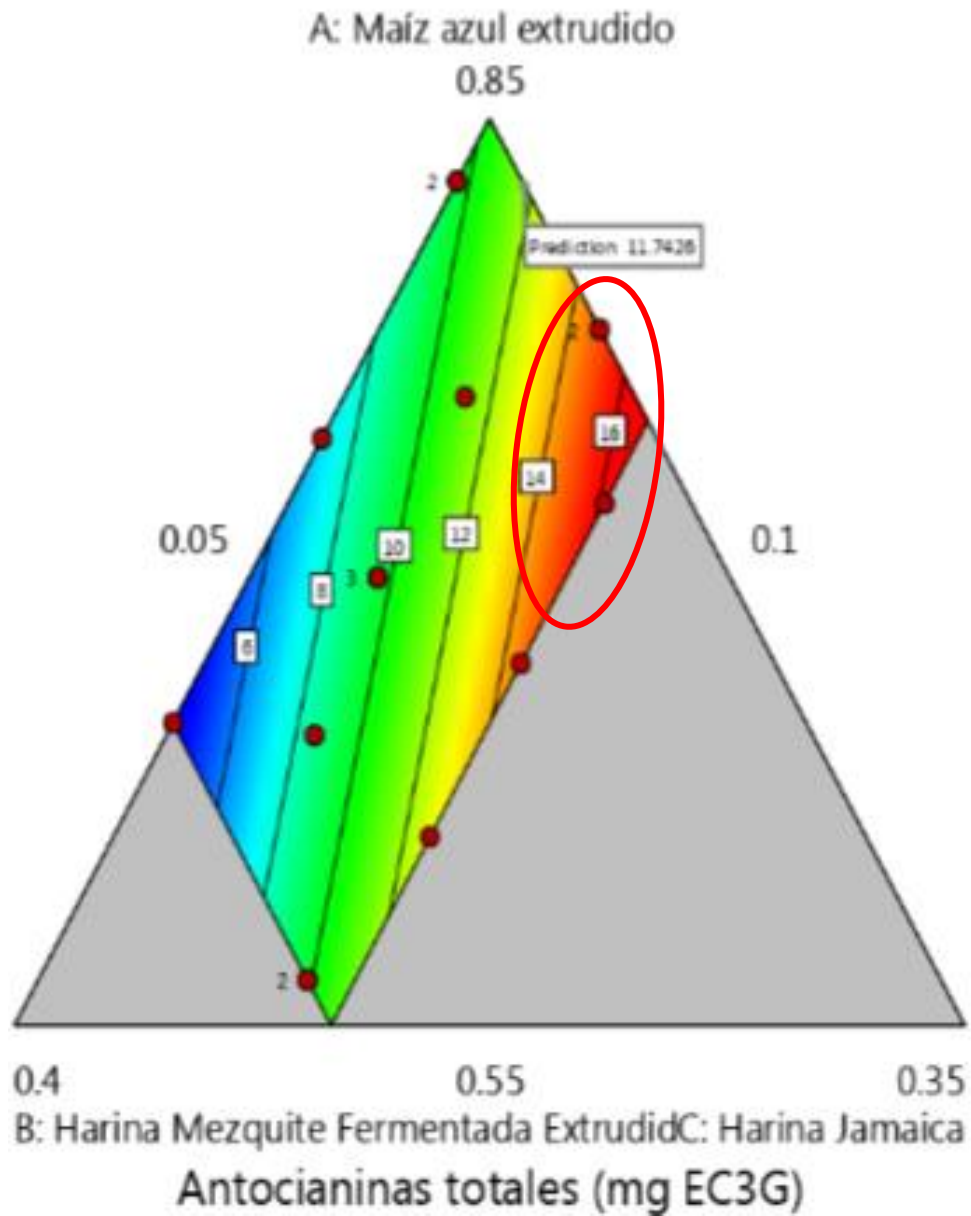


Figura 8. Gráfica triangular de contornos mostrando los valores de predicción de la variable de respuesta antocianinas totales (AT) en función de las proporciones de los componentes (X1, X2, X3) de la mezcla compuesta. X1 (A)= harina de maíz azul extrudido, X2 (B)= harina de vainas de mezquite fermentado-extrudido y X3 (C)= harina de cálices de jamaica.

(probabilidad igual a 0.7254). Además, la dispersión relativa de los puntos experimentales con respecto a los valores predichos con el modelo ($CV= 4.10\%$) fue menor al 10% (**Cuadro 10**). Estos valores indican que el modelo de predicción para AGT de la mezcla compuesta fue adecuado y reproducible.

A partir de este modelo de predicción se construyó una gráfica tridimensional, con forma de triángulo (Figura 9), en los vértices del triángulo, se encuentran los componentes de la mezcla x_1 , x_2 y x_3 .

En la Figura 9 se puede observar que los valores de AGT son más altos (valores deseables) cuando el contenido de harina de maíz extrudido (HMAE) y harina de cálices de jamaica (HCJ) son altos, mientras que el contenido de harina de vainas de mezquite fermentado-extrudido (HVMFE) es de un nivel bajo a un nivel intermedio. Esto indica que una inclusión alta de harina de vainas de mezquite fermentado-extrudido causan una disminución importante de la aceptabilidad global de las tortillas (AGT). Esto puede deberse a que las vainas de mezquite fermentado puede contener algunos compuestos que imparten aceptación sensorial indeseable en las tortillas funcionales. Los valores de AGT más altos se encuentran en una zona cercana donde se encuentran los valores más altos de CFT, AAox y AT. De acuerdo con la Figura 9 se puede observar que los valores teóricos más altos de AGT estuvieron en el rango de 54 a 59, en una escala de 0 a 100.

2. Optimización de las variables de proceso.

Una vez obtenidos los modelos de predicción para cada una de las variables de respuesta estudiadas (**AAox, CFT, FT, AT y AGP**), se utilizó el método numérico de deseabilidad para encontrar los valores óptimos para los niveles de inclusión adecuado de las harinas (HMAE, HVMFE y HCJ) para la elaboración de tortillas funcionales sensorialmente

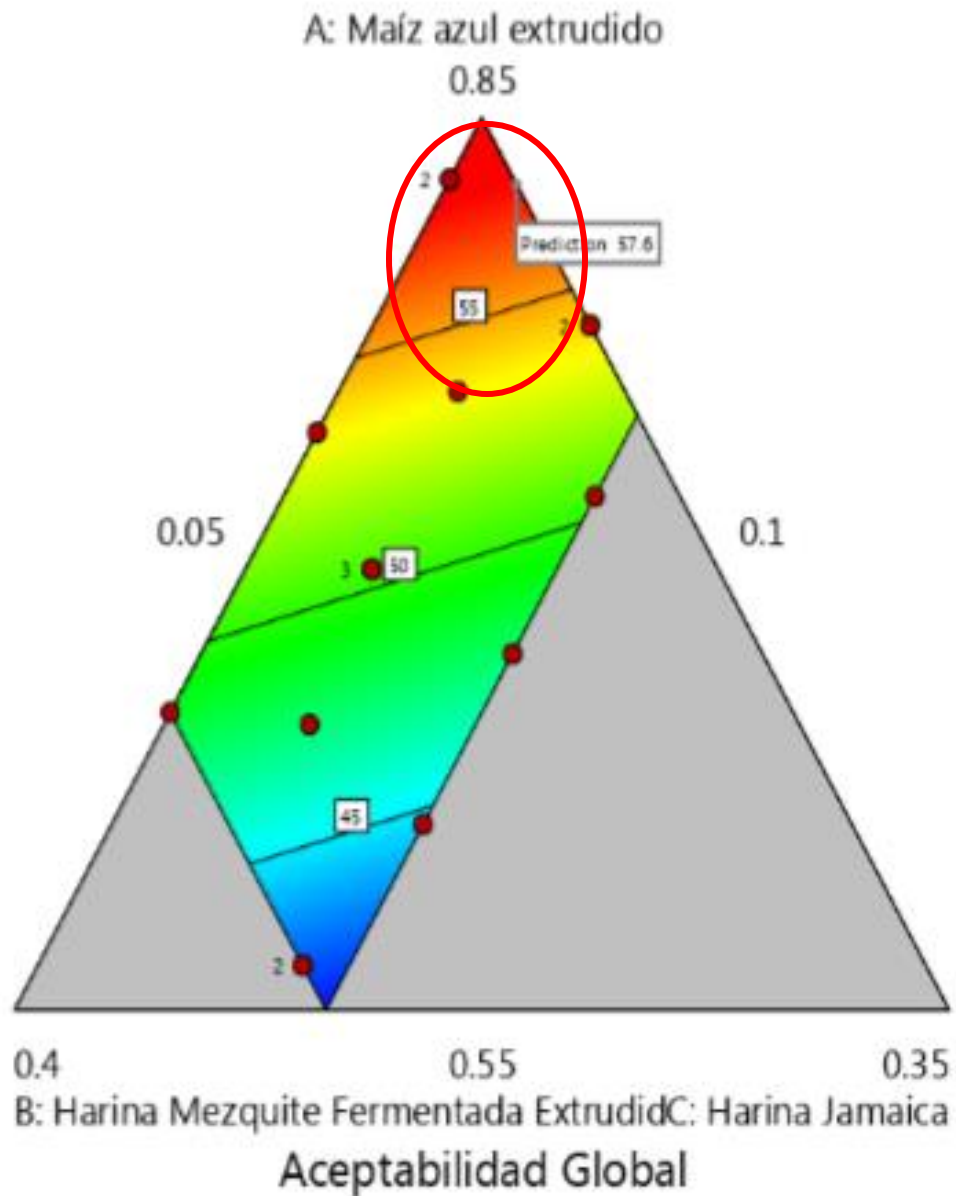


Figura 9. Gráfica triangular de contornos mostrando los valores de predicción de la variable de respuesta aceptabilidad global de la tortilla (AGT) en función de las proporciones de los componentes (X1, X2, X3) de la mezcla compuesta. X1 (A)= harina de maíz azul extrudido, X2 (B)= harina de vainas de mezquite fermentado-extrudido y X3 (C)= harina de cálices de jamaica.

aceptables con valores altos de actividad antioxidante, contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y antocianinas totales.

En la Figura 10 se puede observar el gráfico tridimensional mostrando el efecto de las variables estudiadas sobre la variable de optimización deseabilidad global (D). la mezcla compuesta. X1 (A)= harina de maíz azul extrudido, X2 (B)= harina de vainas de mezquite fermentado-extrudido y X3 (C)= harina de cálices de jamaica.

La deseabilidad global se obtiene a partir de la media geométrica [$D = (d_1 \times d_2 \times d_3 \times d_4 \times d_5)^{1/5}$] de las deseabilidades individuales de las 5 variables de respuesta utilizadas para llevar a cabo la optimización del proceso. La deseabilidad global es una opción lógica, ya que si alguna $d_i(x) = 0$ la deseabilidad global sería $D = 0$, indicando que la tortilla es inaceptable. El procedimiento lógico para llevar a cabo la optimización del proceso consistió en estimar valores de las variables de respuesta en múltiples puntos de la región experimental mediante el uso de sus respectivos modelos de regresión obtenidos a partir del análisis de regresión y varianza realizados previamente. Posteriormente, los valores estimados de las variables de respuesta fueron transformados a valores de deseabilidad individual ($d_i(x)$); esta variable toma valores entre 0 y 1 mediante las ecuaciones de transformación mencionadas en la sección de materiales y métodos. A partir de la ecuación mostrada, se calcularon valores de deseabilidad global (D) en cada uno de los puntos de experimentación seleccionados. Una vez calculados los valores de deseabilidad global, se obtuvieron gráficos de deseabilidad global, los cuales se muestran en la **Figura 10** y en los cuales se observa el comportamiento de dicha variable (D) en función de las variables de proceso X1: HMAE, X2: HVMFE y X3: HCJ.

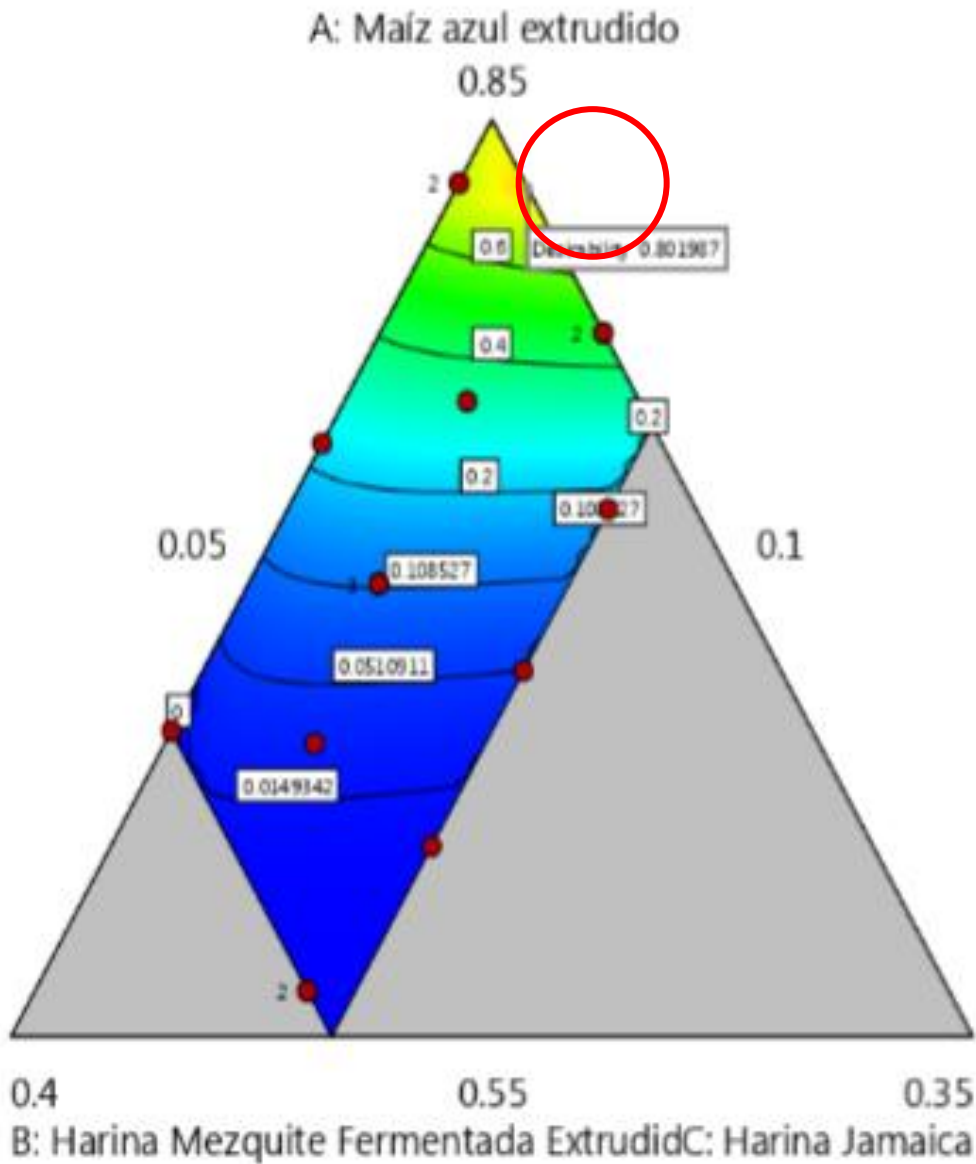


Figura 10. Gráfica triangular de contornos mostrando los valores de predicción de la deseabilidad global (D) en función de las proporciones de los componentes (X1, X2, X3) de la mezcla compuesta. X1 (A)= harina de maíz azul extrudido, X2 (B)= harina de vainas de mezquite fermentado-extrudido y X3 (C)= harina de cálices de jamaica.

El valor de Deseabilidad Global óptimo seleccionado fue $D = 0.8019$ y el cual se encuentra ubicado en las mejores proporciones para las harinas empleadas (HMAE, HVMFE, HCJ). Los valores óptimos seleccionados para la inclusión del porcentaje de las harinas fueron de X1: HMAE=0.828 (82.8%), X2: HVMFE= 0.10 (10%) y X3: HCJ= 0.072 (7.2%).

De igual manera, se obtuvo una gráfica (Figura 11). en donde se observan los valores de deseabilidad individual asociados con la deseabilidad global (D) optima seleccionada. Dichos valores fueron $d_{AAox}=0.94$, $d_{CFT}=0.52$, $d_{FT}=0.90$, $d_{AT}=0.63$ y $d_{AGT}= 1$. Esto indica que la mayoría de las deseabilidades obtenidas estuvieron arriba de 0.63 que es considerable aceptable y bueno (López-Ríos y col., 2018). Ahora en lo referido a la deseabilidad global optima se aprecia un valor de 0.8, recordando que, para que la deseabilidad global sea favorable en sistemas alimenticios debe tener valores $0.6 < D < 0.8$; es por ello por lo que, valores de $D \geq 0.8$ indica que la combinación de variables de proceso logra resultados muy satisfactorios para todas las respuestas. Aunque la mayoría de las respuestas indico que la combinación de las deseabilidades individuales fue efectiva ($d_i \geq 0.6$), se podría sugerir encontrar otra para la $d_{CFT}=0.52$.

B. VALIDACIÓN DE LAS CONDICIONES ÓPTIMAS.

Para validar las condiciones óptimas, se elaboraron 3 réplicas de la mezcla compuesta por la HMAE, HVMFE y HCJ con los mejores porcentajes de inclusión para cada una de ellas [HMAE= 82.8%, HVMFE= 10% y HCJ= 7.2%] para así obtener las tortillas funcionales; a estas tortillas se les evaluó experimentalmente por triplicado **AAox**, **CFT**, **FT**, **AT** y **AGT**. En el **Cuadro 11** podemos observar los resultados de las variables de respuesta evaluadas experimentalmente a las 3 réplicas de tortillas; cabe mencionar que los promedios

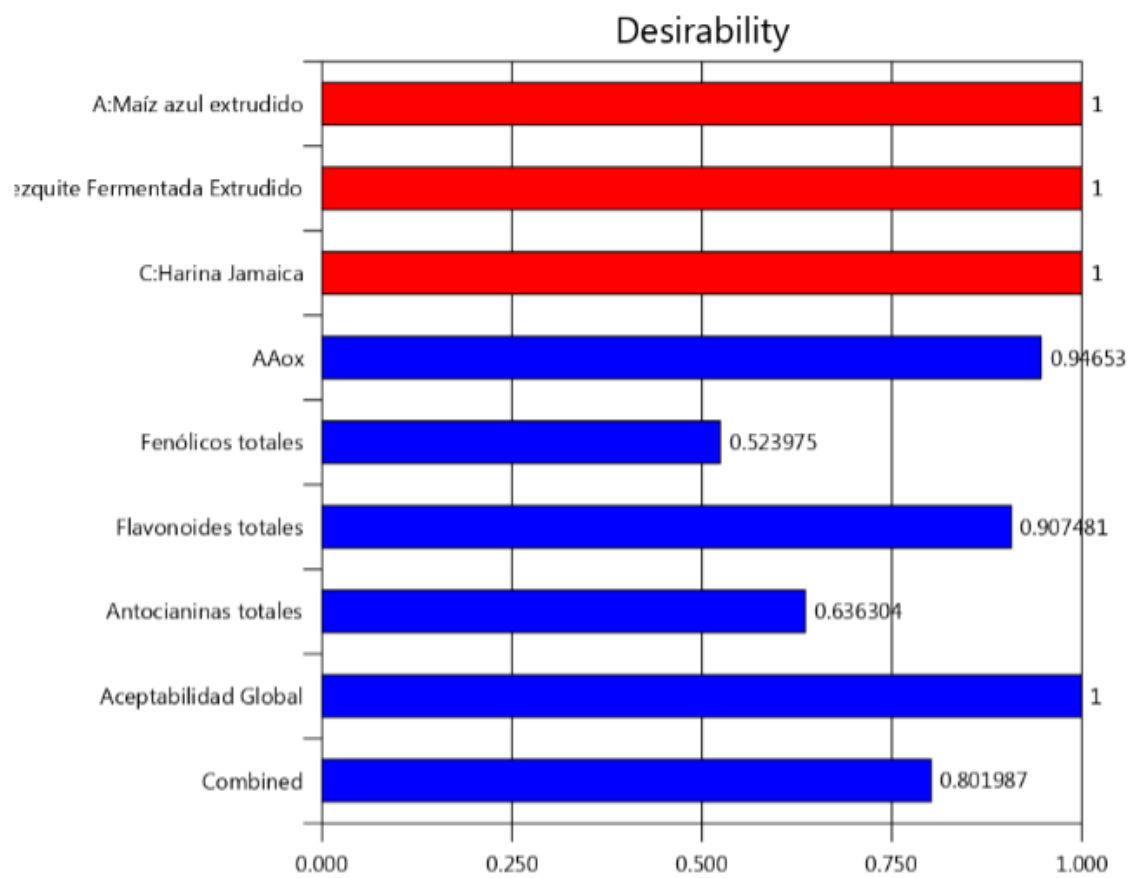


Figura 11. Gráfica de deseabilidades individuales para las variables de respuesta y deseabilidad global de la mezcla compuesta optimizada.

Cuadro 11. Contraste de los resultados experimentales con los valores teóricos predichos para cada una de las variables de respuesta evaluadas a las tres réplicas de tortillas funcionales preparadas con la mezcla compuesta optimizada¹.

| Variables de respuesta² | Valor teórico predicho | Intervalo de confianza teórico del 95% | Resultados Experimentales | Promedio | Desviación estándar | Coefficiente de variación (CV, %) |
|---|-------------------------------|---|----------------------------------|-----------------|----------------------------|--|
| AAox | 4606.8 | 4171 a 5042 | 5060 5047 5001 | 5036 | 31.0 | 0.61 |
| CFT | 359.2 | 347.4 a 371.1 | 356.3 355.5 356.0 | 355.93 | 0.40 | 0.11 |
| FT | 28.7 | 24.4 a 33.1 | 31.8 32.9 33.1 | 32.6 | 0.70 | 2.15 |
| AT | 10.6 | 9.6 a 11.5 | 11.5 11.6 11.3 | 11.47 | 0.15 | 1.33 |
| AGT | 50.3 | 47.5 a 53.1 | 53.2 51.2 52.3 | 52.23 | 1.00 | 1.92 |

¹Harina de maíz azul extrudido (X1: HMAE)= 82.8%, Harina de vainas de mezquite fermentado-extrudido (X2: HVMFE)= 10%, Harina de cálices de jamaica (X3: HCJ)= 7.2%. ²AAox = Actividad antioxidante (μ mol eq. Trolox /100 g), CFT = Compuestos fenólicos totales (mg eq. Ácido Gálico /100 g), FT = Flavonoides totales (mg eq. Catequina /100 g), AT = Antocianinas totales (mg eq. Cianidina-3-glucosido /100 g), AGT = Aceptabilidad global de las tortillas.

de los resultados experimentales (Cuadro 11) se contrastaron con los valores teóricos que arrojaron los modelos matemáticos de predicción para cada una de las variables de respuesta [AAox= 5912 μ mol equivalentes de Trolox/100g (bs), CFT= 356 mg equivalentes de ácido gálico/100g (bs), FT= 37.7 mg equivalentes de catequina/100g (bs), AT= 11.7 mg equivalentes de cianidina 3-glucósido/100g (bs) y AGT= 57.6]. Se puede observar que los valores experimentales de las variables de respuesta fueron similares a los valores predichos mediante los modelos matemáticos de regresión, mencionados anteriormente, indicando que las condiciones óptimas (mezcla óptima de las harinas HMAE, HVMFE y HCJ) fueron adecuadas y reproducibles.

Adicionalmente, para validar las condiciones óptimas se construyó un intervalo de confianza teórico para cada respuesta a partir de la zona de optimización utilizando un nivel de confianza del 95% (Cuadro 11). En el Cuadro 11 se puede ver que los valores promedio de los resultados experimentales obtenidos para todas las variables de respuesta estudiadas cayeron en el rango teórico mencionado anteriormente.

C. RESULTADOS DEL ESTUDIO PRELIMINAR *IN VIVO*: EFECTO PREVENTIVO DEL CONSUMO DE TORTILLAS FUNCIONALES ELABORADAS A PARTIR DE LA MEZCLA COMPUESTA OPTIMIZADA SOBRE EL DAÑO INTESTINAL OCASIONADO POR INFECCIÓN DE *H. pylori* EN RATONES HEMBRA BALB/c.

En el Cuadro 12, se observan los cinco grupos experimentales (ratones hembra BALB/c) estudiados en la presente investigación, de los cuales, cuatro de ellos fueron inoculados con la bacteria *H. pylori*. Desde el punto de vista morfológico no se observan cambios patológicos de interés en los órganos estudiados (intestino delgado y grueso,

Cuadro 12. Resultados del estudio histopatológico.

| Grupos | Número de ratones (hembras) | Esófago | Estómago | Hígado | Duodeno /Yeyuno /Íleon | Colón | Páncreas |
|---|-----------------------------|--|----------|--------|------------------------|-------|----------|
| (1) Ratones inoculados con <i>H. pylori</i> y alimentados con HMAE. | 8 | Sin cambios patológicos aparentes (SCPA) | SCPA | SCPA | SCPA | SCPA | SCPA |
| (2) Ratones inoculados con <i>H. pylori</i> y alimentados con dieta HMAE + HVMFE. | 8 | SCPA | SCPA | SCPA | SCPA | SCPA | SCPA |
| (3) Ratones inoculados con <i>H. pylori</i> y alimentados con HMAE + HVMFE + HCJ (óptima) ² . | 8 | SCPA | SCPA | SCPA | SCPA | SCPA | SCPA |
| (4) Ratones inoculados con <i>H. pylori</i> y alimentados con caseína. | 8 | SCPA | SCPA | SCPA | SCPA | SCPA | SCPA |
| (5) Ratones sin inoculación con <i>H. pylori</i> y alimentados con caseína. | 8 | SCPA | SCPA | SCPA | SCPA | SCPA | SCPA |

¹HMAE= Harina de maíz azul extrudido, HVMFE =Harina de vainas de mezquite fermentado-extrudido, HCJ = Harina de cálices de jamaica. ²HMAE= 82.8%, HVMFE= 10%, HCJ= 7.2%.

esófago, estómago, hígado) a los animales de laboratorio ocasionados por la bacteria *H. pylori* en ninguno de los grupos inoculados con dicho microorganismo. Cabe mencionar que, para el desarrollo de este experimento *in vivo*, en esta investigación se tomó como referencia un trabajo previo realizado en el Bioterio de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH), ubicado en San Agustín Tlaxiaca en el estado de Hidalgo. En esa investigación de referencia se trabajó también con la prevención de infección ocasionada por *H. Pylori* en ratones. Ellos utilizaron péptidos bioactivos para inhibir el crecimiento/reproducción de la bacteria en el tracto intestinal. En dicha investigación la estudiante de doctorado empleó como variable de respuesta la reducción del número de colonias de la bacteria, en vez de analizar el daño en los órganos del animal, la cual es la respuesta que nosotros empleamos en nuestra investigación. La causa posible de que en nuestra investigación no se haya observado daño a parante observable debido a la infección por la bacteria puede deberse a que el tiempo utilizado para la realización del experimento (tiempo de duración de los ratones con la bacteria suministrada e instalada en el animal) haya sido insuficiente. Es por ello por lo que, a este experimento lo denominamos “estudio preliminar *in vivo* de prevención del daño intestinal ocasionado por infección de *H. pylori*”. En un futuro será necesario, antes de reproducir este experimento *in vivo*, generar primero el modelo de estudio, esto es, realizar el experimento a diferentes tiempos con la bacteria inoculada en el animal de laboratorio hasta detectar en cual de estos tiempos existan cambios patológicos de interés observables en los órganos de estudio (intestino delgado y grueso, esófago, estómago, hígado) de los ratones, ocasionados por la bacteria *H. pylori*. A continuación, se describen los cambios morfológicos observados en cada uno de los órganos extraídos a los ratones experimentales.

1. Intestino delgado y grueso.

En el caso de las secciones de intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleon), secciones de intestino grueso (ciego y colon) y páncreas no hay cambios patológicos de interés, si bien en las secciones de intestino delgado algunas muestras presentan daño por autólisis, posiblemente por retraso en la toma de muestras; caso similar sucede con algunas muestras de páncreas.

2. Esófago.

Con relación a esófago, la hiperqueratosis observada en todos los animales de todos los grupos, de moderada a alta, posiblemente sea consecuencia del manejo con la sonda gástrica y es un cambio esperado.

3. Estómago.

Respecto a las muestras de estómago, estas no presentan cambios patológicos significativos en ninguno de los grupos, excepto por algunos pocos cambios autolíticos por el manejo tardío de las muestras. Es interesante notar que tampoco hay presencia de células inflamatorias en lámina propia y submucosa, en mayor o menor medida, como es común observar en estudios con daño gástrico inducido. Esto podría ser consecuencia de un tiempo limitado de experimentación (Figura 12).

4. Hígado.

Finalmente, el cambio graso que presentan los hepatocitos en los hígados de todos los animales puede tener un origen variable y no necesariamente patológico. Si bien esta degeneración puede ser consecuencia de toxicidad inicial (y reversible) por el efecto de algún fármaco o sustancia con actividad de este tipo, puede también ser originado por una sobrealimentación. La hiperemia pasiva que se observa en algunos animales puede ser

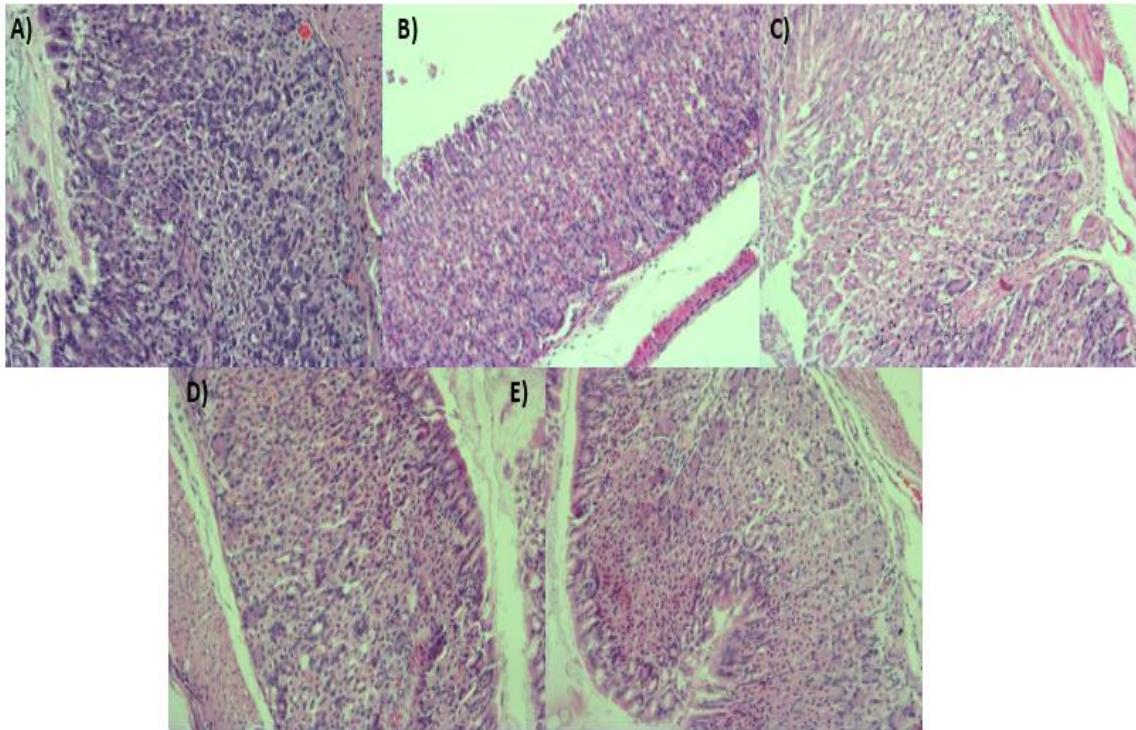


Figura 12. Imágenes histopatológicas obtenidas del estómago. Grupos experimentales: A) Ratones inoculados con *H. pylori* y alimentados con HMAE, B) Ratones inoculados con *H. pylori* y alimentados con HMAE + HVMFE, C) Ratones inoculados con *H. pylori* y alimentados con HMAE + HVMFE + HCJ (óptima), D) Ratones inoculados con *H. pylori* y alimentados con Caseína y E) Ratones no-inoculados con *H. pylori* y alimentados con Caseína. HMAE = harina de maíz azul extruido, HVMFE = harina de vainas de mezquite fermentadas-extruidas, HCJ = harina de cálices de jamaica.

consecuencia del método de sacrificio. Es importante hacer mención que no hay presencia de tejido fibroso o células inflamatorias que indicarían un daño más severo y prolongado (Figura 13).

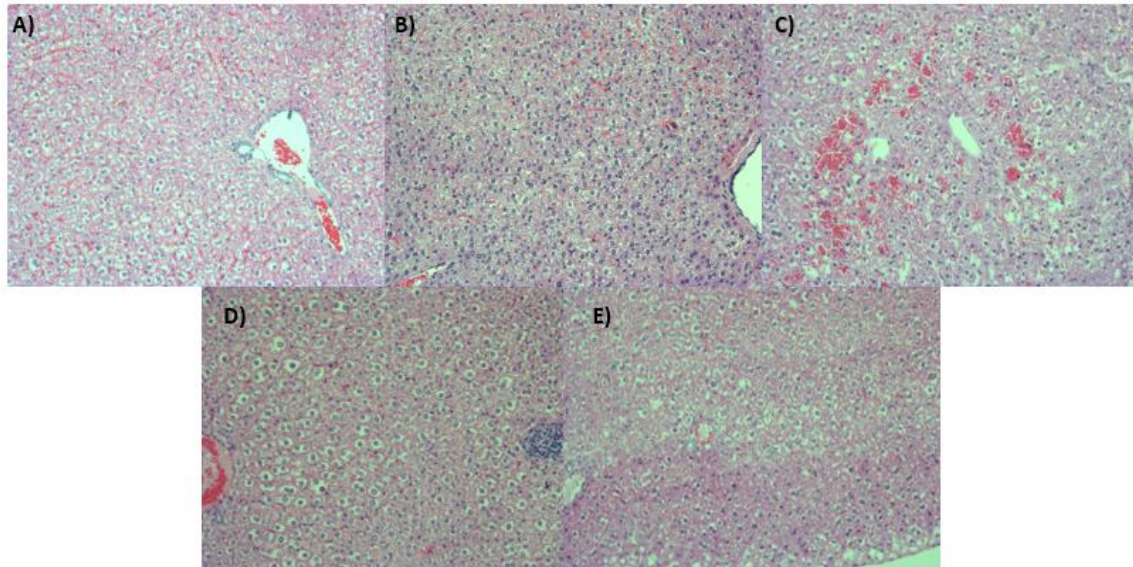


Figura 13. Imágenes histopatológicas obtenidas del hígado. Grupos experimentales: A) Ratones inoculados con *H. pylori* y alimentados con HMAE, B) Ratones inoculados con *H. pylori* y alimentados con HMAE + HVMFE, C) Ratones inoculados con *H. pylori* y alimentados con HMAE + HVMFE + HCJ (óptima), D) Ratones inoculados con *H. pylori* y alimentados con Caseína y E) Ratones no-inoculados con *H. pylori* y alimentados con Caseína. HMAE = harina de maíz azul extruido, HVMFE = harina de vainas de mezquite fermentadas-extruidas, HCJ = harina de cálices de jamaica.

IX. CONCLUSIONES

1. Se obtuvieron modelos de predicción adecuados y reproducibles (p modelo ≤ 0.05 , R^2 ajustada ≥ 0.8 , p falta de ajuste > 0.05 y $CV \leq 10\%$) para cada una de las variables de respuesta estudiadas (**AAox**, **CFT**, **FT**, **AT**, **AGT**).
2. Se encontraron los niveles de inclusión óptimos de cada componente de la mezcla compuesta (HMAE= 82.8%, HVMFE= 10% y HJ= 7.2%) empleada para preparar tortillas funcionales sensorialmente aceptables (AGT = 52.23) con valores altos de actividad antioxidante (5,036 μ mol equivalentes de Trolox/100g, bs), contenido de compuestos fenólicos (355.9 mg equivalentes de ácido gálico/100g, bs), flavonoides (32.6 mg equivalentes de catequina/100g, bs) y antocianinas totales (11.47 mg equivalentes de cianidina 3-glucósido/100g, bs), con una deseabilidad global de 0.8.
3. El estudio de validación indico que, las condiciones óptimas obtenidas en el presente estudio fueron adecuadas y reproducibles, ya que los valores experimentales de las variables de respuesta estudiadas fueron similares a los valores teóricos predichos por los modelos matemáticos de regresión, así como también, estos valores cayeron en el intervalo de confianza teórico creado a partir de la zona de optimización con un nivel de confianza del 95% para cada variable de respuesta.
4. En el estudio histopatológico no se observaron cambios patológicos de interés en los órganos estudiados (intestino delgado y grueso, esófago, estómago, hígado) a los animales de laboratorio (ratones hembra BALB/c) ocasionados por la bacteria *H. pylori* en ninguno de los grupos inoculados con dicho microorganismo. Esto puede deberse a que el tiempo utilizado para la realización del experimento con los ratones infectados con la bacteria haya sido insuficiente. Se recomienda en un futuro, antes

de reproducir este experimento *in vivo*, generar primero el modelo de estudio con daño gástrico observable.

5. Las tortillas funcionales desarrolladas en esta investigación, debido a sus características sensoriales, nutricionales, fitoquímicas y antioxidantes, son una alternativa viable a las tortillas elaboradas de solo maíz, las cuales son pobres en nutrimentos y proteínas, y que actualmente consumen los mexicanos. Asimismo, estas tortillas funcionales representan una estrategia novedosa para reducir las enfermedades crónicas degenerativas en México. Sin embargo, en un futuro es necesario realizar una caracterización más profunda de las tortillas funcionales para validar su potencial real para impactar de manera positiva en la salud de los consumidores.

X. BIBLIOGRAFÍA

American Cancer Society. (2017). *Stomach cancer*. American Cancer Society Medical Information. Recuperado de <https://www.cancer.org/cancer/colon-rectal-cancer.html> (Consultado el 13 de enero de 2024).

Adefegha, S. A. (2018). Functional foods and nutraceuticals as dietary intervention in chronic diseases: Novel perspectives for health promotion and disease prevention. *Journal of Dietary Supplements*, 15(6), 977-1009. <https://doi.org/10.1080/19390211.2017.1401573>.

Agüero, M., Segura, C., & Parra, J. (2014). Análisis comparativo de compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de cuatro marcas de tisanas de *Hibiscus sabdariffa* (Malvaceae) comercializadas en Costa Rica. *Revista UNICIENCIA*, 28(1), 34-42.

Ali-Bradeldin, H., Al-Wabel, N., & Gerald, B. (2005). Phytochemical, pharmacological and toxicological aspects of *Hibiscus sabdariffa* L: A review. *Phytotherapy Research*, 19, 369-375.

Ariza-Flores, R., Serrano-Altamirano, V., Navarro-Galindo, S., Ovando-Cruz, M., Vazquez-Garcia, E., Barrios-Ayala, A., Michel-Aceves, A., Guzmán-Maldonado, S., & Otero-Sánchez, M. (2014). Mexican varieties of Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) 'alma blanca' and 'rosalíz' light colored, and 'cotzaltzin' y 'tecoanapa' red colored. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 37, 181-185.

Armijo-Nájera, M., Moreno-Reséndez, A., Blanco-Contreras, E., Borroel-García, V., & Reyes-Carrillo, J. (2019). Vaina de mezquite (*Prosopis* spp.) alimento para el ganado caprino en el semidesierto. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(1), 113-122.

Basto-Abreu, A., López-Olmedo, N., Rojas-Martínez, R., Aguilar-Salinas, C. A., Moreno-Banda, G. L., Carnalla, M., Rivera, J. A., Romero-Martínez, M., Barquera, S., &

Barrientos-Gutiérrez, T. (2023). Prevalencia de prediabetes y diabetes en México: Ensanut 2022. *Salud Pública de México*, 65(Supl 1), S163-S168. <https://doi.org/10.21149/14832>

Bon-Padilla, B. K., Reyes-Moreno, C., Milán-Carrillo, J., Reynoso-Camacho, R., Gómez-Aldapa, C. A., Gómez-Favela, M. A., & Gutiérrez-Dorado, R. (2022). Tortillas made from nixtamalized maize and extruded chickpea flours: A product with improved *in vitro* nutritional and antihypertensive properties. *Cereal Chemistry*, 99, 1154–1165. <https://doi.org/10.1002/cche.10577>

Camargo, P., & Boschian, E. (2012). *Helicobacter pylori*: Rol del agua y los alimentos en su transmisión. *Anales Venezolanos de Nutrición*, 25(2), 85-93. Recuperado el 18 de marzo de 2024, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-07522012000200005&lng=es&tlng=es

Cid-Ortega, S., & Guerrero-Beltrán, J. A. (2012). Propiedades funcionales de la Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Temas Selectos de Ingeniería en Alimentos*, 6(2), 47-63.

Desai, A. N. (2020). Presión arterial alta. *JAMA*, 324(12), 1254–1255. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.11289>

Díaz-Batalla, L., Hernández-Uribe, J., Gutiérrez-Dorado, R., Téllez-Jurado, A., Castro-Rosas, J., Pérez-Cadena, R., & Gómez-Aldapa, C. (2018). Nutritional characterization of *Prosopis laevigata* legume tree (mesquite) seed flour and the effect of extrusion cooking on its bioactive components. *Foods*, 7(124), 1-9.

Díaz-Batalla, L. (2019). Valor nutrimental de harinas de vaina de mezquite (*Prosopis laevigata*) y efecto de su consumo en un alimento obtenido por extrusión sobre el desarrollo de dislipidemia en ratón C57BL/6J. (Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Querétaro).

ENSANUT. (2022). *Prevalencia de prediabetes y diabetes en México: Ensanut 2022*. Disponible en: <https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanutcontinua2022/doctos/analiticos/21-Diabetes-ENSANUT2022-14832-72458-2-10-20230619.pdf> (Consultado el 06 de enero de 2024).

Escalante-Aburto, A., Ramírez-Wong, B., Torres-Chávez, P., Barrón-Hoyos, J., Figueroa-Cárdenas, J., & López-Cervantes, J. (2013). La nixtamalización y su efecto en el contenido de antocianinas de maíces pigmentados, una revisión. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(4), 429-437. Recuperado el 16 de agosto de 2024, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802013000400009&lng=es&tlng=es.

Félix-Medina, J., Montes-Ávila, J., Reyes-Moreno, C., Perales-Sánchez, J., Gómez-Favela, M., & Aguilar-Palazuelos, E. (2020). Second-generation snacks with high nutritional and antioxidant value produced by an optimized extrusion process from corn/common bean flours mixtures. *LWT*, 124, 109172. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109172>.

Felker, P., Takeoka, G., & Dao, L. (2013). Pod mesocarp flour of North and South American species of leguminous tree *Prosopis* (mesquite): Composition and food applications. *Food Reviews International*, 29(1), 49-66.

FMD AC. (2023). *Federación Mexicana de Diabetes, A.C Informe anual 2023*. Disponible en: <https://fmdiabetes.org/federacion-mexicana-de-diabetes-a-c-informe-anual-2023/> (Consultado el 06 de enero de 2024).

García-Rosas, M., Bello-Pérez, A., Yee-Madeira, H., Ramos, G., Flores-Morales, A., & Mora-Escobedo, R. (2009). Resistant starch content and structural changes in maize (*Zea mays*) tortillas during storage. *Starch-Stärke*, 61(7), 414-421.

Gámez-Valdez, L. C., Gutiérrez-Dorado, R., Gómez-Aldapa, C. A., Perales-Sánchez, J. X. K., Milán-Carrillo, J., Cuevas-Rodríguez, E. O., & Reyes-Moreno, C. (2021). Effect of the extruded amaranth flour addition on the nutritional, nutraceutical and sensory quality of tortillas produced from extruded creole blue maize flour. *Biotecnia*, 23(2), 103–112. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v23i2.1385>.

Gearhart, C. M., & Rosentrater, K. A. (2014). Extrusion processing of amaranth and quinoa. *ASABE and CSBE/SCGAB Annual International Meeting*, Montreal, Canada. Paper No. 141912019.

GLOBOCAN. (2020a). Estimated age-standardized incidence and mortality rates (World) in 2020, worldwide, both sexes, all ages. Disponible en: <https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-map> (Consultado el 05 de mayo de 2022).

GLOBOCAN. (2020b). Estimated age-standardized incidence and mortality rates (Mexico) in 2020, worldwide, both sexes, all ages. Disponible en: <https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-map> (Consultado el 05 de mayo de 2022).

GLOBOCAN. (2020c). Estimated number of new cases from 2020 to 2030, both sexes, age (0-85+) colon. Disponible en: https://gco.iarc.fr/tomorrow/en/dataviz/isotype?cancers=8&single_unit=50000&years=2030 (Consultado el 05 de mayo de 2022).

Guanyiao, L., Miaomiao, P., Weiwei, Z., Yandong, W., Zhengjun, Z., & Zhaoran, S. (2024). Establishment of the molecular subtypes and a risk model for stomach adenocarcinoma based on genes related to reactive oxygen species. *Heliyon*, 10(5), E27029.

Hirunpanich, V., Utaipat, A., Morales, N. P., Bunyaphatsara, N., Sato, H., & Herunsalee, A. (2016). *Tablas de composición de alimentos y productos alimenticios* (versión condensada 2015). Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. ISBN: 978-607-7797-19-7.

Jackson, D. S., & Shandera, D. L. Jr. (1995). Corn wet milling: Separation chemistry and technology. *Advances in Food and Nutrition Research*, 38, 271-300. [https://doi.org/10.1016/s1043-4526\(08\)60085-6](https://doi.org/10.1016/s1043-4526(08)60085-6)

Kusters, J. G., Van Vliet, A. H. M., & Kuipers, E. J. (2006). Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(3), 449–490. <https://doi.org/10.1128/CMR.00054-05>

Leal, Y. A., Flores, L. L., Fuentes-Pananá, E. M., Cedillo-Rivera, R., & Torres, J. (2011). 13C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children: A systematic review and meta-analysis. *Helicobacter*, 16(4), 327-337.

Malfertheiner, P., Megraud, F., & O'Morain, C. A. (2017). Management of *Helicobacter pylori* infection—the Maastricht V/Florence consensus report. *Gut*, 66(1), 6-30.

Martí, A., Calvo, C., & Martínez, A. (2021). Consumo de alimentos ultraprocesados y obesidad: Una revisión sistemática. *Nutrición Hospitalaria*, 38(1), 177-185. <https://doi.org/10.20960/nh.03151>

Mandal, A. (2019). Clasificación del cáncer. *News-Medical*. Disponible en: <https://www.news-medical.net/health/Cancer-Classification.aspx> (Consultado el 5 de mayo de 2022).

MedlinePlus en español. (2024). Sobrepeso. Bethesda (MD). Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/003101.htm> (Consultado el 28 de junio de 2024).

Milán-Carrillo, J., Gutiérrez-Dorado, R., Perales-Sánchez, J. X. K., Cuevas-Rodríguez, E. O., Ramírez-Wong, B., & Reyes-Moreno, C. (2006). The optimization of the extrusion process when using maize flour with a modified amino acid profile for making tortillas. *International Journal of Food Science and Technology*, *41*(7), 727–736. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.00997.x>

Moayyedi, P., Lacy, B. E., & Andrews, C. N. (2017). ACG and CAG clinical guideline: Management of dyspepsia. *The American Journal of Gastroenterology*, *112*(7), 988-1013.

Monteiro, C. A., Cannon, G., Moubarac, J., Levy, R. B., Louzada, M. L. C., & Jaime, P. C. (2018). The UN Decade of Nutrition, the NOVA food classification and the trouble with ultra-processing. *Public Health Nutrition*, *21*(1), 5-17. <https://doi.org/10.1017/S1368980017000234>

Moscicki, L., & Zuilichem, D. J. (2011). Extrusion-cooking and related technique. En: *Extrusion-cooking techniques: Applications, theory and sustainability* (pp. 1-24). Weinheim, Alemania: Wiley-VCH.

Niederhuber, J. E., Armitage, J. O., Dorshow, J. H., & Tepper, J. E. (2020). Cancer of the stomach. En *Abeloff's Clinical Oncology* (6th ed.). Elsevier. <https://www.clinicalkey.com> (Consultado el 22 de enero de 2024).

National Institutes of Health (NIH). (2023). Causas y factores de riesgo del cáncer de estómago. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/tipos/estomago/causas-factores-riesgo> (Consultado el 14 de agosto de 2024).

Organización Mundial de la Salud (OMS). (2023a). Enfermedades no transmisibles. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases> (Consultado el 6 de enero de 2024).

Organización Mundial de la Salud (OMS). (2023b). Diabetes. Disponible en: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes> (Consultado el 6 de enero de 2024).

Organización Mundial de la Salud (OMS). (2024c). Malnutrition. Disponible en: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/malnutrition/> (Consultado el 6 de enero de 2024).

Ortiz-Marquéz, S. (2008). Composición en macronutrientes, minerales y metales pesados en cálices de jamaica cultivada en el estado Monagas. *Tecnología y pensamiento*, 3(1–2), 61–75.

Pérez, M. J., Cuello, A. S., Zampini, I. C., Ordoñez, R. M., Alberto, M. R., Quispe, C., Schmeda, H. G., & Isla, M. I. (2014). Polyphenolic compounds and anthocyanin content of *Prosopis nigra* and *Prosopis alba* pods flour and their antioxidant and anti-inflammatory capacities. *Food Research International*, 64, 762–771.

Procuraduría Federal del Consumidor (PROFECO). (2018). Obesidad y sobrepeso. Menos kilos, más vida. Disponible en: <https://www.gob.mx/profeco/documentos/obesidad-y-sobrepeso-menos-kilos-mas-vida?state=published>

Roa, A. D. F., Santagapita, P. R., & Buera, M. D. P., & Tolaba, M. P. (2014). Amaranth milling strategies and fraction characterization by FT-IR. *Food Bioprocess Technology*, 7(3), 711-718.

Rodríguez Saucedo, E., Rojo-Martínez, G., Ramírez-Valverde, B., Martínez-Ruiz, R., Cong-Hermida, M., Medina Torres, S., & Piña-Ruiz, H. (2014). Análisis técnico del árbol del mezquite (*Prosopis laevigata* Humb. & Bonpl. ex Willd.) en México. *Ra Ximhai*, 10(3), 173-193.

Reyes-Moreno, C., Reyes-Fernández, P. C., Cuevas-Rodríguez, E. O., Milán-Carrillo, J., & Mora-Rochín, S. (2018). Changes in nutritional properties and bioactive compounds in cereals during extrusion cooking. En *Extrusion of Metals, Polymers, and Food Product* (pp. 103-124). Rijeka, Croatia: INTECH.

Rodrigo, L., & Riestra, S. (2007). Dieta y cáncer de colon. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 99(4), 183-189.

Rosas-Peralta, M., Palomo-Piñón, S., Madrid-Miller, A., Almeida-Gutiérrez, E., Galván-Oseguera, H., Magaña-Serrano, J., Saturno-Chiu, G., Ramírez-Arias, E., Santos-Martínez, E., Díaz-Díaz, E., Salgado-Pastor, S., Morales-Mora, G., Medina-Concebida, L., Pérez-Ruiz, C., Pérez-Rodríguez, G., Castro-Martínez, M., & Paniagua-Sierra, R. (2016). Consenso de hipertensión arterial sistemática en México. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 54(1), 6-51.

Sánchez, Y., Zermeño, M., Vázquez, O., Nuño, K., & Villarruel, A. (2024). Bioactive compounds from pigmented corn (*Zea mays* L.) and their effect on health. *Biomolecules*, 12, 338.

Schmeda, H. G., & Isla, M. I. (2015). Polyphenolic compounds and anthocyanin content of *Prosopis nigra* and *Prosopis alba* pods flour and their antioxidant and anti-inflammatory capacities. *Food Research International*, 64, 762–771.

Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM). (2020). Cáncer de estómago. SEOM información. Disponible en: <https://seom.org/info-sobre-el-cancer/colon-recto?start=2> (Consultado el 5 de mayo de 2022).

Serna, S., Gutiérrez, J., Mora, S., & García, S. (2013). Nutraceutical potential of native maize and changes during traditional and extrusion processing. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36, 295-304.

Serón-Arbeloa, C., Labarta-Monzón, L., & Puzo-Foncillas, J., et al. (2022). Malnutrition screening and assessment. *Nutrients*, 14, 2392.

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2020). Con los colores del maíz, México se pinta solo. Disponible en: <https://www.gob.mx/siap/articulos/con-los-colores-del-maiz-mexico-se-pinta-solo?idiom=es> (Consultado el 28 de abril de 2023).

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2023). Con los colores del maíz, México se pinta solo. Disponible en: <https://www.gob.mx/siap/articulos/con-los-colores-del-maiz-mexico-se-pinta-solo?idiom=es> (Consultado el 28 de abril de 2023).

Strable, J., & Scanlon, M. J. (2009). *Maize (Zea mays): A model organism for basic and applied research in plant biology*. *Cold Spring Harbor Protocols*, 10(2009), pdb-emo132.

Thun, M. J., Linet, M. S., Cerhan, J. R., Haiman, C. A., & Schottenfeld, D. (2018). *Cancer epidemiology and prevention* (4th ed.). Oxford University Press.

Torres, E., Francis, J., & Sahagún, F., & Stalnikowitz, D. (Eds.). (2015). *Gastroenterología*. McGrawHill. Disponible en:

<https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1475§ionid=101519522>

(Consultado el 8 de mayo de 2023).

Wang, S., Ai, Y., Hood-Niefer, S., & Nickerson, M. T. (2019). Effect of barrel temperature and feed moisture on the physical properties of chickpea, sorghum, and maize extrudates and the functionality of their resultant flours—Part 1. *Cereal Chemistry*, 96(4), 609-620.

Yamaoka, Y. (2010). Mechanisms of disease: *Helicobacter pylori* virulence factors. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 7(10), 629-641.
<https://doi.org/10.1038/nrgastro.2010.154>

Zheng-Ke-Ke, Tang, W.-Z., Jia, K., Li, D.-N., Qiu, L.-Y., Chen, X., & Yang, L. (2024). Relación entre fragilidad y resultados adversos en pacientes ancianos con cáncer gástrico: Una revisión del alcance. *Annals of Medicine & Surgery*, 86(3), 1590-1600.
<https://doi.org/10.1097/MS9.0000000000001817>

ABREVIATURAS

- AAox- actividad antioxidante
- ABTS - Ácido 2,2'-Azino-Bis-(3-Etilbenzotiazolin-6-sulfónico)
- bs - base seca
- CAT – contenido de antocianinas totales
- CE - capacidad emulsificante
- CFE - capacidad de formación de espuma
- CFT- Compuestos fenólicos totales
- CG – Cancer gástrico
- CV - coeficiente de variación
- DRX - difracción de rayos X
- DSC - calorimetría diferencial de barrido
- EC3G – Cianidin-3-O-glucosido
- ENSANUT – Encuesta nacional de salud y nutrición
- ENT – Enfermedades no transmisibles
- FMD – Federación mexicana de diabetes
- FT- Flavonoides totales
- FT-IR - infrarrojo con análisis por transformada de Fourier
- g - gramos
- h – horas
- HMA – Harina de maíz azul
- HMAE – Harina de maíz azul extrudido
- HVMF – Harina de vaina de mezquite fermentado

- HVMFE – Harina de vaina de mezquite fermentado-extrudido
- HCJ – Harina de calices de jamaica
- IAA- índice de absorción de agua
- IAAC - índice de absorción de aceite
- IBP – inhibidor de la bomba de protones
- ICD-O-3 - Clasificación internacional de las enfermedades oncológicas en su tercera edición
- IMC- Índice de masa corporal
- min - minutos
- mm – milímetros
- mm Hg – milímetros de mercurio
- MPa – Megapascales
- MSR - Metodología de superficie de respuesta
- NaOH - Hidróxido de sodio
- OMS – Organización mundial de la salud.
- PROFECO – Procuraduría Federal del Consumidor
- TE - Temperatura de extrusión
- VT - velocidad de tornillo

ANEXOS

PROTOCOLO DE BIOÉTICA PARA EL USO Y MANEJO DE ANIMALES DE LABORATORIO



**Dirección
de Servicios
Académicos**

**Dirección
de Bioterio**



| FORMATO DE SOLICITUD AL CIECUAL PARA ACTIVIDADES DE INVESTIGACIÓN | | |
|--|---|-----------------------------|
| DATOS GENERALES: | | |
| Instituto y área académica a la que pertenece: Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, Área Académica de Química | Fecha de solicitud 23 / 02 / 2023 | |
| Nombre del titular del proyecto: Carlos Alberto Gómez Aldapa | | |
| E mail: cgomeza@uaeh.edu.mx | | Teléfono: 7711342662 |
| Título del proyecto: Evaluación del potencial efecto quimioprotector y antioxidante de tortillas funcionales de maíz (<i>Zea mays</i>) azul extrudido fortificadas con harina de mezquite (<i>Prosopis laevigata</i>) fermentado-extrudido y harina de cálices de jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i>). | | |
| Nombre de los investigadores y estudiantes que participarán. | E mail | Tel: |
| Dr. Carlos Alberto Gómez Aldapa | cgomeza@uaeh.edu.mx | 7711342662 |
| LBG. Marco Cesar Villanazul Verdugo | Marco.villanazul.lbg@uas.edu.mx | 6671544664 |
| Dra. Raquel Cariño Cortés | Raquel_carino4897@uaeh.edu.mx | 7711917116 |
| Dr. Roberto Gutiérrez Dorado | rgutierrez@uas.edu.mx | 6672311146 |
| Fecha de Inicio: 09 – 01 – 2023 | Fecha de término: 09 – 01 – 2025 | |
| <p>Indica si el investigador principal, investigadores participantes y alumnos que participarán en el desarrollo del proyecto, tienen experiencia en el manejo, uso y cuidado de los animales de laboratorio, así como el conocimiento de la norma NOM-062-ZOO-1999, entre otras.</p> <p>Tanto el estudiante, como los profesores investigadores pertenecientes a la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo involucrados en el presente proyecto han tomado el curso de capacitación para el uso y manejo de animales de laboratorio. Además, poseen conocimientos sobre la norma NOM-062-ZOO-1999.</p> | | |
| <p>Indica si el investigador principal, investigadores participantes y alumnos que participarán en el desarrollo del proyecto han tomado algún curso sobre el manejo y uso de animales de laboratorio. (Especifique lugar y fecha).</p> <p>Tanto el estudiante, como los profesores investigadores pertenecientes a la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo involucrados han tomado el curso de capacitación para el uso y manejo de animales de laboratorio impartido en el bioterio de la institución (se anexan constancias) durante el transcurso del año 2022</p> | | |

Antecedentes nacionales o Internacionales:

Las personas desnutridas, con sobrepeso, obesidad y los adultos mayores son poblaciones con sistema inmunológico comprometido; presentan vulnerabilidad alta a enfermedades infecciosas y crónico-degenerativas. Es por ello que, la desnutrición, el sobrepeso, la obesidad y las enfermedades crónico-degenerativas, principalmente hipertensión, enfermedades del corazón, diabetes mellitus, tumores malignos, son los principales padecimientos de salud y causas de muerte en México. En nuestro país, el principal producto alimenticio del maíz es la tortilla, con un consumo promedio diario de 1,400 millones de tortillas. La extrusión es una alternativa a la nixtamalización, no genera contaminantes efluentes y presenta una retención alta de nutrimentos y fitoquímicos. La extrusión alcalina (proceso ecológico) genera harinas para tortillas con características nutracéuticas y nutricionales mejores respecto al proceso tradicional de cocción alcalina. La tortilla obtenida por extrusión representa un vehículo viable para mejorar el estado nutricional de los mexicanos y reducir incidencia de enfermedades crónico-degenerativas. La fortificación de tortillas de maíz azul criollo con harinas de leguminosas y frutos, como el mezquite y la jamaica, representa una alternativa para mejorar sus propiedades nutracéuticas; esto debido a que presentan buenos niveles de compuestos bioactivos, principalmente compuestos fenólicos, los cuales se ha probado tienen efecto protector y coadyuvante en algunos tipos de cáncer, además de contener proteínas de que una mezcla de cereales y leguminosas garantiza la ingesta de todos los aminoácidos esenciales.

El maíz azul, representa una buena alternativa para la producción de botanas de segunda generación, debido a que contiene elevadas cantidades de almidón que facilitan la expansión del producto, además de contar con la presencia de fitoquímicos como ácidos fenólicos y flavonoides cuya actividad antioxidante, antiinflamatoria, antihipertensiva e hipoglucémica han sido probadas. Sin embargo, nutrimentalmente carece de aminoácidos como lisina y triptófano.

Por su parte, el mezquite es una leguminosa en cuya composición química destaca la elevada cantidad de proteína contenida principalmente en la semilla del fruto (40-60%), sin embargo, su proteína es limitante en aminoácidos azufrados. Además, que contiene grandes cantidades de flavonoides como la genisteína.

En el caso de la jamaica, el fruto consiste en un cáliz de color rojo oscuro, que se encuentra conformado por hasta 7 pétalos. Diversos autores afirman que la planta de jamaica puede considerarse una buena fuente de nutrimentos, ya que contiene proteínas de alta calidad, carbohidratos, grasas y un amplio perfil de compuestos bioactivos. Además, se han identificado una gran variedad de compuestos bioactivos presentes en el fruto, los cuales son de suma importancia debido a los efectos benéficos que brindan a la salud, donde destaca la presencia de alcaloides, eugenol, β -caroteno, saponinas, fitoesteroles, ceras, pectinas y fibra. Sin embargo, los compuestos de mayor relevancia farmacológica son los ácidos orgánicos, antocianinas, flavonoides y polisacáridos.

Justificación:

La alimentación es uno de los principales factores de riesgo para la aparición de enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) y el 10% de las muertes en nuestro país son atribuidas a factores dietéticos. El cáncer y la obesidad son unas de las patologías más frecuentes a nivel mundial. Estos padecimientos son de desarrollo gradual, que tienden a ser muy agresivos. A pesar de que existen diversas alternativas de tratamiento, es necesario modificar hábitos alimenticios. La inclusión de alimentos funcionales ricos en fitoquímicos y proteínas de alta calidad en la dieta, representa una buena alternativa como tratamiento coadyuvante de este tipo de patologías. Actualmente, se encuentra bien documentado que la extrusión es una estrategia efectiva para la producción de tortillas de maíz azul. Asimismo, existen varios reportes acerca de la fortificación de tortillas de maíz con otras fuentes vegetales para mejorar su valor nutricional y nutracéutico, principalmente potencial antioxidante, hipoglucemiante y antihipertensivo. En la literatura no existen reportes acerca de la elaboración de tortillas de maíz azul extrudido fortificadas con harina de semillas de mezquite fermentado-extrudido y harina de calices de jamaica con el propósito de mejorar el valor nutricional

y nutracéutico de las mismas, así como, tampoco existen reportes en literatura donde se haya evaluado el potencial efecto quimioprotector y antioxidante de tortillas funcionales.

Objetivos:

Objetivo general.

Evaluar el efecto quimioprotector en modelos in vivo de ratones BALB/c de compuestos bioactivos presentes en tortillas funcionales, de valor nutracéutico alto y buenas propiedades tecno-funcionales/sensoriales, desarrolladas a partir de una mezcla compuesta optimizada a base de harina de maíz (*Zea mays* L) azul extrudido, harina de semillas de mezquite (*Prosopis laevigata*) fermentado-extrudido y harina de cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*).

1. Evaluar y comparar el efecto quimioprotector y antioxidante de compuestos bioactivos presentes en las tortillas funcionales desarrolladas a partir de la mezcla compuesta optimizada.

Materiales y Métodos del ensayo:

A fin de evaluar el efecto quimioprotector se realizará un monitoreo de micronúcleos y Actividad Antioxidante Total en suero (DPPH, ABTS y FRAP), para llevar a cabo dicha actividad se recolectarán dos gotas de sangre periférica caudal de los animales experimentales (la extracción será mediante la cola del roedor) a las 0, 96, 192, 264 y 360 horas.

Se sugiere un diseño experimental conformado por los grupos y controles a evaluar en todos los ensayos. Cabe mencionar que cada grupo estará conformado por 8 ratones hembras.

| Grupo | Dieta |
|-----------|---|
| Control 1 | Caseína (dieta basal) |
| Control 2 | Caseína + daunorrubicina (10 mg/Kg) |
| Grupo 1 | Tortilla de maíz azul extrudida (TMAE) + Harina de mezquite fermentada-extrudida (HMFE) + Harina de cálices de jamaica (HCJ) + daunorrubicina |
| Grupo 2 | Tortilla de MAE + daunorrubicina |
| Grupo 3 | Tortilla de MAE + HMFE + daunorrubicina |

Todas las dietas serán suplementadas con base a su análisis proximal hasta alcanzar la composición nutricional establecida en la dieta AIN-93G.

Experimentos para realizar

Efecto quimioprotector y antioxidante.

El efecto quimioprotector será evaluado mediante el monitoreo de micronucleos en sangre periférica caudal de los animales a las 0, 96, 192, 264 y 360 h, mediante la extracción de dos gotas de sangre de la cola del roedor posteriores al tratamiento, se realizarán los frotis sanguíneos y se procederá a la fijación y tinción con hematoxilina-eosina, para realizar el conteo de células para determinar la citotoxicidad, genotoxicidad y antigenotoxicidad (el estado antioxidante total será evaluado en el suero de los animales, el cual se obtendrá mediante centrifugación a 2500 r.p.m, 15 min de la sangre total obtenida mediante punción cardíaca previa anestesia con zoletil (50 mg/kg) I.M. Se procederá a la desproteinización del suero y evaluación de la capacidad antiradical mediante las técnicas espectrofotométricas de DPPH, FRAP y ABTS (Morales y Jimenez-Pérez, 2001; Kuskoski, 2005)

Referencias:

Amaya-Guerra, C. A., Alanis-Guzman, M. G., & Saldivar, S. O. S. (2004). Effects of soybean fortification on protein quality of tortilla-based diets produced from regular and quality protein maize. *Plant foods for human nutrition*, 59(2), 45-50.

Cariño-Cortés R, Alvarez-González I, Martino-Roaro L, Madrigal-Bujaidar E. Effect of naringin on the DNA damage induced by daunorubicin in mouse hepatocytes and cardiocytes. *Biol Pharm Bull.* 2010;33(4):697-701. doi:10.1248/bpb.33.697

Cristóbal-Luna JM, Álvarez-González I, Madrigal-Bujaidar E, Chamorro-Cevallos G. Grapefruit and its biomedical, antigenotoxic and chemopreventive properties. *Food Chem Toxicol.* 2018;112:224-234. doi:10.1016/j.fct.2017.12.038

Gómez-Aldapa, C., Martínez-Bustos, F., Figueroa, C. J. D., & Ordorica, F. C. A. (1999). A comparison of the quality of whole corn tortillas made from instant corn flours by traditional or extrusion processing. *International journal of food science & technology*, 34(4), 391-399.

Kuskoski, E. M., A. G. Asuero, A. M. Troncoso, J. Mancini-Filho and R. Fett. 2005. Application of various chemical methods to determine antioxidant activity in fruit pulp. *Food Sci. Technol. (Campinas).* 25: 726–732. <https://www.scielo.br/j/cta/a/B58T9S5zLLxjBL5PVzZXHCF/?lang=es>

Morales, F. J. and S. Jiménez-Pérez. 2001. Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to colour and fluorescence. *Food Chem.* 72: 119–125. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00239-9](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00239-9)
 Reyes-Moreno, C., Reyes-Fernández, P. C., Cuevas-Rodríguez, E. O., Milán-Carrillo, J., & Mora-Rochín, S. (2018). Changes in Nutritional Properties and Bioactive Compounds in Cereals During Extrusion Cooking. *En: Extrusion of Metals, Polymers, and Food Products.*[Consultado 18 Enero 2019] Disponible en: <http://www.intechopen.com/books/extrusion-of-metals-polymersand-food-products> <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.68753>.

INFORMACIÓN DE LOS ANIMALES SOLICITADOS

| | |
|---|-------------------------|
| Especie: Ratón | Cantidad: 40 |
| Línea: BALB/c | Sexo: Hembra |
| Peso: 20-25 gramos | Edad: 21 días |
| Señala si el trabajo con los animales de laboratorio se realizará exclusivamente en el bioterio: Sí | |

ASPECTOS GENERALES EN EL USO Y CUIDADO DE LOS ANIMALES

| | SI | NO | Frecuencia y procedimiento |
|--------------------|----|----|----------------------------|
| Signos Vitales | | X | |
| Peso | X | | Semanalmente |
| Suministro de Agua | X | | Diario |

| | | | |
|---|---|---|--------------------|
| Suministro de Alimento | X | | Diario |
| Jaula Metabólica | | X | |
| Jaula convencional | X | | |
| Cambio de cama | X | | Diario |
| Temperatura y humedad del macroambiente | X | | 25 °C |
| Modificación del ciclo luz/obscuridad. | X | | Ciclos de 12 horas |
| Resumen Clínico o conductual | X | | |
| Horario de atención a los animales | X | | De 8 a 17 horas |
| Otros | | | |

| PROCEDIMIENTOS | | | | |
|---|-----------|-----------|--------------------|--|
| | SI | NO | Frecuencia | Observaciones |
| Inmunización y/o inoculación de agentes biológicos | | X | | |
| Administración de medicamentos | X | | Una vez por semana | |
| Uso de sustancias peligrosas, patógenas, radioactivas, zoonóticas, cancerígenas u otras potencialmente dañinas para la salud y el medio ambiente. | | X | | |
| Procesos quirúrgicos | | X | | |
| Obtención de muestras | X | | Una vez por semana | Se tomarán muestras de sangre caudal para la evaluación de marcadores celulares. |

| | | | | |
|----------------------|---|--|-------------|--|
| Obtención de tejidos | x | | Post-mórtem | |
| Otros: | | | | |

| |
|---|
| ASPECTOS BIOÉTICOS |
| ¿Aplica el criterio de las 3R's? (Reducción del número de animales, Reemplazo en el uso de Biomodelos y Refinamiento de las técnicas durante el manejo de los animales). Describa de qué manera. Sí |
| Criterios para el Punto Final (Aspectos clínicos que indiquen dolor o sufrimiento en el animal). Cualquier signo de sufrimiento del animal de manera visual, como piloerección y/o cambios conductuales (falta de apetito) serán indicativos de sufrimiento del animal, por lo cual serán sometidos a punto final por punción cardíaca. |
| Método de eutanasia que usará y destino final de los animales. El método de eutanasia planteado es la punción cardíaca, una vez sacrificados los animales se diseccionarán a fin de recolectar los órganos de interés. Asimismo, los cadáveres serán manejados por la ruta de RPMI. |
| Consideraciones éticas. El Protocolo se someterá a revisión por parte del Comité de Cuidado Animal del Instituto de Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, para su aprobación. |

| |
|--|
| OBSERVACIONES GENERALES (escriba alguna observación que considere relevante para que sea tomada en cuenta por el CICUAL). |
|--|

*****LLENADO SOLO POR EL CICUAL*****

Folio CICUAL (revisión): CICUAL-R-I-007-2023

Revisión del protocolo de investigación

(Verifique y marque en la columna de la derecha el cumplimiento, en el formato de evaluación, cada uno de los puntos)

| CRITERIOS | SI | NO | CONSIDERACIONES |
|--|----|----|-----------------|
| DATOS GENERALES | X | | |
| DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO | X | | |
| INFORMACIÓN DE LOS ANIMALES SOLICITADOS | X | | |
| ASPECTOS GENERALES EN EL USO Y CUIDADO DE LOS ANIMALES | X | | |
| PROCEDIMIENTOS | X | | |
| ASPECTOS BIOÉTICOS | X | | |
| Requerimientos de acuerdo con la NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 | | | |

| FECHA | | SI | NO | Propuesta de Cambios: |
|----------------|----------|----|----|-----------------------|
| 10/04/2023 | Aprobado | X | | |
| OBSERVACIONES: | | | | |

| NOMBRE DEL EVALUADOR | PRESIDENTE DEL CICUAL | DIRECTOR BIOTERIO |
|----------------------|-----------------------|-------------------|
| | | |



Dirección
de Servicios
Académicos



Dirección
de Bioterio



COMITÉ INSTITUCIONAL PARA EL CUIDADO Y USO DE ANIMALES DE
LABORATORIO

DICTÁMEN DE EVALUACIÓN

| INSTITUTO: Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, Área Académica de Química. | | FOLIO: CICUAL-V-I/006/2023 | |
|--|-----------|---|---------------------|
| | | FECHA DE SOLICITUD: 23-02-2023 | |
| PROYECTO: Evaluación del potencial efecto quimioprotector y antioxidante de tortillas funcionales de maíz (<i>Zea mays</i>) azul extrudido fortificadas con harina de mezquite (<i>Prosopis laevigata</i>) fermentado-extrudido y harina de cálices de jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i>). | | RESPONSABLE DEL PROYECTO: Dr. Carlos Alberto Gómez Aldapa E mail: cgomez@uaeh.edu.mx Teléfono: 7711342662 | |
| INVESTIGADORES QUE PARTICIPAN EN EL PROYECTO: Dr. Carlos Alberto Gómez Aldapa, Dra. Raquel Cariño Cortés, Dr. Roberto Gutiérrez Dorado | | | |
| ALUMNOS O PASANTES QUE PARTICIPAN EN EL PROYECTO: LBG. Marco Cesar Villanazul Verdugo | | | |
| ASPECTOS A EVALUAR | ACEPTABLE | NO ACEPTABLE | SUGERENCIAS |
| JUSTIFICACIÓN DEL USO DE ANIMALES DE LABORATORIO | X | | |
| BIENESTAR Y ESTRÉS ANIMAL | X | | |
| PROCEDIMIENTOS Y CUIDADOS APLICADOS EN EL ANIMAL | X | | |
| ASPECTOS ÉTICOS DEL PROTOCOLO | X | | |
| PUNTO FINAL Y EUTANASIA | X | | |
| OBSERVACIONES GENERALES | | | |
| FECHA DE REVISIÓN | NEGADO | | FECHA DE APROBACIÓN |
| 14/03/2023 | APROBADO | x | 11/04/2023 |
| Fecha de inicio: 15 de abril 2023 Fecha de término: 15 de abril 2025 | | | |
| CARACTERÍSTICAS DE LOS ANIMALES QUE SE PROPORCIONARÁN: 40 Ratón / BALB/c / HEMBRA / 21 días / 20-25 gr | | | |

| | | |
|-------------------------------|--|---|
| INVESTIGADOR PRINCIPAL | PRESIDENTE CICUAL  Carlos Alberto Gómez Aldapa | DIRECTOR BIOTERIO  Héctor Hernández Domínguez |
|-------------------------------|--|---|

CERTIFICADO DE SALUD DE LOS ANIMALES



Dirección
de Servicios
Académicos

Dirección
de Bioterio

CERTIFICADO DE SALUD

Investigación

Docencia

IDENTIFICACIÓN: **DB22**

FOLIO: **002/2023**

| | | |
|--|--|------------------|
| Sistema protegido de origen: CONVENCIONAL | | |
| Línea: BALB/c | Total de cajas: 5 | |
| Especie: Ratón | Peso: 12 -15 g. | Edad: 3 - 4 sem. |
| Centro de destino: Química. | Dr. Carlos Gómez Aldapa | |
| Fecha de expedición: 27/02/2023 | CANTIDAD DE ANIMALES: 40 hembras 24 machos | |
| DICTAMEN ZOOTÉCNICO: | | |
| Los animales fueron mantenidos en condiciones convencionales con ambiente controlado, en sistema de producción intensivo, con alimento balanceado comercial para roedor Lab chow 5008, agua desionizada y cama estéril. | | |
| EXAMEN CLINICO: | | |
| Los animales en el momento de la expedición se encuentran clínicamente sanos. Proceden de una colonia que epizootiológicamente está controlada con inspección clínica y programa de medicina preventiva que garantiza el buen estado de salud de los animales. | | |

Aprobado por: M.V.Z.
Responsable Médico